

**EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN TULANG AYAM  
BROILER (*Gallus domesticus*) DENGAN VARIASI LAMA PERENDAMAN  
PELARUT ASAM SITRAT**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
NOVI MUSTIKA SARI  
NIM. 15630031**



**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN TULANG AYAM  
BROILER (*Gallus domesticus*) DENGAN VARIASI LAMA PERENDAMAN  
PELARUT ASAM SITRAT**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
NOVI MUSTIKA SARI  
NIM. 15630031**

**Diajukan kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN TULANG AYAM  
BROILER (*Gallus domesticus*) DENGAN VARIASI LAMA PERENDAMAN  
PELARUT ASAM SITRAT**

**SKRIPSI**

**Oleh :  
NOVI MUSTIKA SARI  
NIM. 15630031**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :  
Tanggal: 21 Juni 2021**

**Pembimbing I**



**Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P  
NIP. 19750410 200501 2 009**

**Pembimbing II**



**A. Ghanaim Fasya, M.Si  
NIP. 19820616 200604 1 002**

**Mengetahui,  
Ketua Program Studi**



**Elok Kamilah Hayati, M.Si  
NIP. 19790620 200604 2 002**

**EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN TULANG AYAM  
BROILER (*Gallus domesticus*) DENGAN VARIASI LAMA PERENDAMAN  
PELARUT ASAM SITRAT**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
NOVI MUSTIKA SARI  
NIM. 15630031**


**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 21 Juni 2021**


**Penguji Utama : Elok Kamilah Hayati, M.Si  
NIP. 19790620 200604 2 002**


**Ketua Penguji : Fadilah Nor Laili Lutfia, M.Biotech  
NIP/NIDT.63033**


**Sekretaris Penguji : Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P  
NIP. 19750410 200501 2 009**

**Anggota Penguji : A. Ghanaim Fasya, M.Si  
NIP. 19820616 200604 1 002**

  
(.....)

  
(.....)

  
(.....)

  
(.....)

**Mengetahui,  
Ketua Program Studi**

  
**Elok Kamilah Hayati, M.Si  
NIP. 19790620 200604 2 002**

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Novi Mustika Sari

NIM : 15630031

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen Tulang Ayam Broiler  
(*Gallus domesticus*) dengan Variasi Lama Perendaman Pelarut  
Asam Sitrat

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 21 Juni 2021  
Yang Membuat Pernyataan,



Novi Mustika Sari  
NIM. 15630031

## MOTTO

"Jika tidak bisa membantu orang lain setidaknya tidak menyusahkan orang lain"

"If you can't be intelligent, be a good person"

"Every moment is precious, even the difficult ones" [Kim Jennie]

"Don't feel like things are going too fast or too slow, because there's time for everyone" [Kim Jennie]

"Jika ingin mengerti orang lain, jadilah orang itu. Kau harus bisa merasakan apa yang dilaluinya" [Miss Hammurabi]

"Jangan menjelaskan tentang dirimu pada siapapun, karena yang menyukaimu tidak membutuhkannya, dan yang membencimu tidak percaya itu" [Ali Bin Abi Thalib]

"Allah does not burden a soul beyond what it can bear" [QS. Al-Baqarah 286]

"Tanda orang yang tidak pernah bersyukur adalah membandingkan dirinya dengan orang lain. Jangan bandingkan prosesmu dengan orang lain, karena bunga tidak mekar secara bersama dalam satu tangkai"

## PERSEMBAHAN

*Pertama saya ingin thankgiwing for Allah. Terima kasih telah memberi jalan indah di kehidupanku hingga aku sampai di titik ini, dapat menyelesaikan studi dan menyelesaikan skripsi. Skripsi ini saya persembahkan untuk diriku sendiri yang sudah mau bertahan sampai detik ini, meskipun tidak mudah, namun keyakinan di lubuk hati bahwa Allah menyiapkan sesuatu yang indah di masa depan.*

*Persembahan kecil ini juga saya tujukan kepada orang tua saya dan keluarga saya yang telah melalui banyak perjuangan serta rasa sakit. Kepada ibu saya dan ayah saya terima kasih atas dukungan serta motivasinya.*

*Kepada temanku Laili, Yusuf, Desinta, Safira dan Ayyuma terima kasih sudah membantuku dan memberiku semangat. Kepada anggota girlgroup, boygroup dan drama korea terima kasih telah menemaniku dalam mengerjakan skripsi ini serta memberiku motivasi untuk mempercepat menyelesaikan skripsi ini.*

## KATA PENGANTAR

Assalamualaikum wa rahmatullahi wa barakatuh

Alhamdulillah, puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik dan hidayah-Nya, sehingga penyusun dapat menyelesaikan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan tugas akhir/skripsi ini dengan baik.

Penyusun mengucapkan syukur Alhamdulillah atas terselesaikannya skripsi penelitian dengan judul “Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen Tulang Ayam Broiler (*Gallus domesticus*) dengan Variasi Lama Perendaman Pelarut Asam Sitrat”. Skripsi ini dimaksudkan sebagai salah satu syarat untuk memenuhi kewajiban untuk jenjang S1 dalam tugas akhir.

Penyusun juga haturkan terima kasih seiring doa dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu penyusun, sehingga penyusun dapat menyelesaikan skripsi ini. Ucapan terimakasih ini penyusun sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag. selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini M.Si. selaku Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si. selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si. M.P. selaku dosen pembimbing penelitian yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak A. Ghana'im Fasya, M.Si. selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan pengarahan, bimbingan dan nasehat kepada penyusun selama menyelesaikan Skripsi ini.
6. Segenap sivitas akademika Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan,



pengalaman, wacana dan wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penyusun.

7. Ayahanda dan Ibunda tercinta yang senantiasa memberikan doa restu, dukungan materil serta dukungan moril kepada penyusun dalam menuntut ilmu.
8. Teman-temanku yang telah memberi motivasi, informasi dan masukannya kepada penyusun menyelesaikan skripsi ini.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas segala bantuan dan motivasinya kepada penyusun.

Penyusun menyadari akan kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan Skripsi. Penyusun berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penyusun secara pribadi. *Aamiin ya Rabbal Alamin*. Wassalamualaikum wa rahmatullahi wa barakatuh

Malang, 22 Juni 2021

Penyusun

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xv</b>
<b>مخلص البحث .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	8
1.3 Tujuan Penelitian .....	8
1.4 Batasan Masalah .....	8
1.5 Manfaat .....	9
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>10</b>
2.1 Tulang Ayam .....	10
2.2 Kolagen .....	11
2.3 Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen .....	15
2.3.2 Karakterisasi Kolagen .....	16
2.3.2.1 Analisis Rendemen .....	16
2.3.2.2 Kadar Air .....	17
2.3.2.3 Kadar Abu .....	17
2.3.2.4 Nilai pH .....	17
2.3.2.5 Kadar Lemak .....	17
2.3.2.6 Kadar Protein .....	19
2.3.2.7 Kelarutan Kolagen .....	19
2.3.2.8 Identifikasi Gugus Fungsi Kolagen dengan Spektrofotometer FTIR .....	20
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
3.1 Pelaksanaan Penelitian .....	22
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	22
3.2.1 Alat .....	22
3.2.2 Bahan .....	22
3.3 Rancangan Penelitian .....	23
3.4 Tahapan Penelitian .....	23
3.5 Pelaksanaan Penelitian .....	24
3.5.1 Preparasi dan Ekstraksi Kolagen .....	24

3.5.2 Karakterisasi Kolagen.....	25
3.5.2.1 Rendemen. ....	25
3.5.2.2 Kadar Air. ....	25
3.5.2.3 Kadar Abu.....	25
3.5.2.4 Nilai pH.....	26
3.5.2.5 Kadar Lemak.....	26
3.5.2.6 Kadar Protein . ....	27
3.5.2.7 Kelarutan Kolagen. ....	28
3.5.2.8 Identifikasi Gugus Fungsi Kolagen dengan Spektrofotometer FTIR	28
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>29</b>
4.1 Ekstraksi Kolagen .....	29
4.2 Karakterisasi Kolagen .....	32
4.2.1 Rendemen .....	32
4.2.2 Kadar Air .....	34
4.2.3 Kadar Abu .....	36
4.2.4 Nilai pH .....	36
4.2.5 Kadar Lemak .....	38
4.2.6 Kadar Protein .....	39
4.2.7 Kelarutan Kolagen.....	41
4.2.8 Identifikasi Gugus Fungsi Kolagen dengan Spektrofotometer FTIR .....	42
<b>BAB V PENUTUP .....</b>	<b>45</b>
5.1 Kesimpulan.....	45
5.2 Saran.....	45
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>46</b>
<b>LAMPIRAN I.....</b>	<b>53</b>
<b>LAMPIRAN II.....</b>	<b>54</b>
<b>LAMPIRAN III .....</b>	<b>60</b>
<b>LAMPIRAN IV .....</b>	<b>66</b>
<b>LAMPIRAN V .....</b>	<b>69</b>
<b>LAMPIRAN VI .....</b>	<b>75</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 2 Tulang ayam.....	10
Gambar 2. 3 Susunan molekul tripokolagen pada fibril kolagen.....	12
Gambar 2. 4 Struktur kolagen. ....	14
Gambar 2. 5 Alat ekstraksi soxhlet. ....	18
Gambar 4. 1 Mekanisme reaksi ekstraksi kolagen dengan perendaman asam. ....	29
Gambar 4. 2 Spektrum hasil pengukuran kolagen dari tulang ayam sampel 36 jam menggunakan spektrofotometer FTIR .....	43

## DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Syarat mutu dan keamanan kolagen kasar .....	15
Tabel 2. 2 Karakteristik gugus fungsi kolagen hasil FTIR .....	20
Tabel 4. 1 Rendemen ekstraksi kolagen tulang ayam .....	33
Tabel 4. 2 Hasil kadar air kolagen tulang ayam .....	35
Tabel 4. 3 Hasil kadar abu kolagen tulang ayam .....	36
Tabel 4. 4 Pengukuran pH kolagen tulang ayam .....	37
Tabel 4. 5 Hasil kadar lemak kolagen tulang ayam .....	38
Tabel 4. 6 Kadar protein kolagen tulang ayam .....	39
Tabel 4. 7 Kelarutan kolagen tulang ayam .....	41
Tabel 4. 8 Spektrum FTIR kolagen tulang ayam sampel 36 jam .....	43

## DAFTAR LAMPIRAN

1. Skema kerja.....	53
2. Diagram alir .....	54
3. Perhitungan .....	60
4. Risk assessment .....	66
5. Gambar penelitian .....	69
6. Data hasil pengujian.....	75

## ABSTRAK

Sari, Novi Mustika. 2021. **Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen Tulang Ayam Broiler (*Gallus domesticus*) dengan Variasi Lama Perendaman Pelarut Asam Sitrat**. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I : Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P. Pembimbing II : A. Ghanaim Fasya, M.Si.

---

**Kata Kunci:** Kolagen, Tulang Ayam, Lama Perendaman

Kolagen merupakan biomaterial dari protein yang terkandung di dalam tubuh hewan yang mampu terurai dengan aman dan relatif cepat. Kolagen dalam industri kosmetik berperan sebagai zat aktif yang dapat memberikan manfaat untuk kulit seperti sebagai *anti-aging* (sebagai zat pencegah keriput), meningkatkan kelembaban pada kulit, sebagai penyembuhan luka, menjaga kulit dari radikal bebas, dan menjaga elastisitas kulit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekstraksi kolagen dengan variasi lama perendaman asam sitrat terhadap kualitas kolagen tulang ayam broiler (*Gallus domesticus*) dan mengetahui gugus fungsi kolagen tulang ayam broiler (*Gallus domesticus*) dari sampel terbaik.

Penelitian ini menggunakan metode *experimental laboratory*. Tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu ekstraksi kolagen dari tulang ayam broiler (*Gallus domesticus*), dan melakukan uji kualitas kolagen seperti rendemen, kadar air, kadar abu, pH, kadar lemak, kadar protein, kelarutan kolagen, dan analisis kolagen menggunakan *Spektrofotometer fourier transform infrared* (FTIR) pada sampel terbaik.

Hasil ekstraksi kolagen tulang ayam dengan perendaman asam sitrat 5% diperoleh rendemen terbesar dengan lama perendaman 36 jam sebanyak 5,64%, kadar air terendah dengan lama perendaman 12 jam sebesar 14,50%, kadar abu terendah dengan lama perendaman 12 jam sebesar 0,22%, pH kolagen terendah dengan lama perendaman 48 jam sebesar 7,17, kadar lemak terendah dengan lama perendaman 48 jam sebesar 0,13%, kadar protein tertinggi pada lama perendaman 36 jam sebesar 9,61% dan kelarutan kolagen terendah pada lama perendaman 36 jam dengan kelarutan sebesar 39%, serta memiliki 4 amida dengan bilangan gelombang 3446, 1591, 1412, dan 1300  $\text{cm}^{-1}$ .

## ABSTRACT

Sari, Novi Mustika. 2021. **Extraction and Characterization Collagen of Broiler Chicken Bone (*Gallus domesticus*) with Variation in The Immersion Time of The Citric Acid Solvent.** *Skripsi*. Department of Chemistry Faculty of Science and Technology. State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor I: Akyunul Jannah, M.P. Advisor II A. Ghanaim Fasya, M.Si.

---

**Keywords:** Collagen, Chicken Bone, Soaking Time.

Collagen is a biomaterial of protein contained in animal bodies that can break down safely and relatively quickly. Collagen in the cosmetic industry acts as an active substance that can provide benefits for the skin such as anti-aging (as a wrinkle-preventing agent), increasing moisture in the skin, as wound healing, protecting the skin from free radicals, and maintaining skin elasticity. This study aims to determine the collagen extraction with variations in the length of soaking citric acid on the quality of broiler chicken bone collagen (*Gallus domesticus*) and to determine the functional groups of broiler chicken bone collagen (*Gallus domesticus*) from the best samples.

This study used an experimental laboratory method. The steps taken in this study were collagen extraction from broiler chicken bones (*Gallus domesticus*), and collagen quality tests such as yield, water content, ash content, pH, fat content, protein content, collagen solubility, and collagen analysis using the Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FTIR) on the best sample.

The results of the extraction of chicken bone collagen with 5% citric acid immersion obtained the greatest yield with a soaking time of 36 hours as much as 5.64%, the lowest water content with a soaking time of 12 hours by 14.50%, the lowest ash content with a soaking time of 12 hours of 0, 22%, the lowest collagen pH with immersion time for 48 hours was 7.17, the lowest fat content was 0.13% for 48 hours, the highest protein content in the 36 hours soaking time was 9.61% and the lowest collagen solubility in the soaking time 36 hours with a solubility of 39%, and has 4 amides with wave numbers 3446, 1591, 1412, and 1300  $\text{cm}^{-1}$ .



## مخلص البحث

ساري ، نوفي موستيكا. ٢٠٢١. استخلاص وتوصيف كولاجين عظام الدجاج اللاحم (جالوس دومينيكالوس) مع تغيرات في وقت النقع بمذيب حامض الستريك. مقال. قسم الكيمياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول د. أخيون الجنة، المجستر. المشرف الثاني: احمد غا نيام فشى، المجستر.

---

## الكلمات المفتاحية: كولاجين ، عظم دجاج ، وقت النقع

الكولاجين مادة حيوية من البروتين الموجود في أجسام الحيوانات ويمكن أن يتحلل بأمان وبسرعة نسبية. الكولاجين في صناعة مستحضرات التجميل يعمل الكولاجين كمادة فعالة يمكن أن توفر فوائد للبشرة ، مثل مكافحة الشيخوخة (كعامل مانع للتجاعيد) ، وزيادة الرطوبة في الجلد ، والتئام الجروح ، وحماية الجلد من الجذور الحرة ، والحفاظ على مرونة الجلد. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد تأثير وقت النقع لحمض الستريك على جودة الكولاجين في عظام الدجاج اللاحم (جالوس دومينيكالوس) وتحديد المجموعات الوظيفية المنتجة من محصول الكولاجين في عظام الدجاج اللاحم (جالوس دومينيكالوس).

استخدمت هذه الدراسة طريقة معملية تجريبية. كانت الخطوات التي اتخذت في هذه الدراسة هي استخراج الكولاجين من عظام الدجاج اللاحم (جالوس دومينيكالوس) ، واختبارات جودة الكولاجين مثل المحصول ، ومحتوى الرطوبة ، ومحتوى الرماد ، ودرجة الحموضة ، ومحتوى الدهون ، ومحتوى البروتين ، وقابلية ذوبان الكولاجين ، وتحليل الكولاجين باستخدام تحويل فورييه. مقياس الطيف الضوئي بالأشعة تحت الحمراء (FTIR) على أفضل عينة.

حصلت نتائج استخلاص كولاجين عظام الدجاج بغمر حمض الستريك بنسبة ٥٪ على أكبر محصول مع وقت نقع ٣٦ ساعة بقدر ٥٠،٦٤٪ وهو أقل محتوى مائي مع وقت نقع ١٢ ساعة بنسبة ١٤،٥٠٪ ، وأدنى رماد. المحتوى مع وقت النقع ١٢ ساعة من ٠،٢٢٪ ، وكان أقل درجة حموضة الكولاجين مع وقت الغمر لمدة ٤٨ ساعة ٧،١٧٪ ، وكان أقل محتوى دهني ٠،١٣٪ لمدة ٤٨ ساعة ، وكان أعلى محتوى بروتين في ٣٦ ساعة من وقت النقع. ٩،٦١٪ وأقل ذوبان للكولاجين كان في وقت النقع ٣٦ ساعة مع قابلية ذوبان ٣٩٪ ، وله ٤ أميدات بأرقام موجية ٣٤٤٦ ، ١٥٩١ ، ١٤١٢ ، ١٣٠٠ سم<sup>-١</sup>.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Pola konsumtif ayam di Indonesia sangat tinggi apabila dibandingkan dengan hewan lainnya, ini dikarenakan harga ayam jauh lebih murah jika dibandingkan dengan kambing dan sapi, selain itu daging ayam juga mudah dijumpai dan dagingnya enak untuk dikonsumsi, akan tetapi daging ayam yang dikonsumsi menyisakan tulang yang dapat berdampak negatif pada lingkungan yaitu berupa limbah tulang ayam, sehingga dapat menimbulkan masalah lingkungan akibat sisa tulang yang tidak memiliki nilai ekonomi (Musdalifah, 2016).

Tulang ayam merupakan salah satu limbah padat yang sulit terurai sehingga dapat mencemari lingkungan. Limbah padat sebagai sisa yang tidak dikehendaki kehadirannya karena cenderung tidak memiliki nilai ekonomi. Limbah tulang ayam dari segi kimia terdiri atas air, lemak, kolagen dan zat anorganik (Musdalifah, 2016). Tulang ayam mengandung sumber protein berupa kolagen (Said, 2017).

Kolagen merupakan biomaterial dari protein yang terkandung di dalam tubuh hewan yang mampu terurai dengan aman dan relatif cepat. Kolagen memiliki komponen struktural utama dari jaringan ikat putih (*White connective tissue*) yang meliputi 30% dari total protein. Molekul dasar yang membentuk kolagen disebut tropokolagen yang memiliki berat molekul 300.000 Da pada struktur batang, didalam struktur tersebut terdapat tiga rantai polipeptida yang sama panjang dan membentuk struktur *helix* secara bersama. Tropokolagen akan terdenaturasi dengan

pelarut asam, basa, urea dan potassium permanganate, serabut kolagen akan mengalami penyusutan apabila dipanaskan diatas suhu penyusutan  $T > T_s$  (misalnya 65-70°C). Serabut *triple helix* yang pecah akan menjadi lebih panjang, Pemecahan tersebut akan mengubah struktur menjadi hitam acak yang larut dengan air atau biasa disebut dengan gelatin (Miskah, 2010).

Sifat-sifat kolagen dapat dikelompokkan menjadi dua. Pertama, sifat-sifat yang terkait dengan perilaku pembentuk gel seperti tekstur, penebalan, gel pembentukan, dan kapasitas pengikatan air. Kedua, adalah perilaku permukaan, yang termasuk emulsi, pembentukan busa, stabilisasi, adhesi dan kohesi, fungsi koloid pelindung dan kapasitas pembentukan film (Gomez-Guillen, 2011), Selain itu, kolagen adalah agen aktif permukaan yang baik dan menunjukkan kemampuannya untuk menembus antarmuka bebas lipid (Lee et al, 2001).

Aplikasi utama film dalam kolagen digunakan sebagai penghalang membran untuk melindungi dari oksigen, kelembapan, dan zat terlarut. Film *edible* kolagen merupakan pengganti plastik. Film ini memiliki muatan listrik yang sama sehingga saling tolak, hal ini pada dasarnya mencegah pembentukan tetesan yang lebih tinggi, namun, pada tekanan mekanik yang tinggi dan suhu tinggi akan cenderung merusak lapisan emulsi halus. Kerusakan ini dapat dicegah dengan memberikan stabilitas tambahan. Penstabil yang digunakan harus meningkatkan viskositas emulsi, khususnya membuat selubung pelindung untuk mencegah tetesan dan menjadi netral secara elektrik. Properti inilah yang dinamakan efek pelindung koloid (Schrieber and Gareis, 2007).

Sifat lain kolagen adalah pembentukan busa. Pembentukan busa untuk membentuk dan menstabilkan busa tergantung pada struktur molekul substansi,

pada dasarnya harus memiliki karakteristik aktif permukaan, hal ini dapat menyebabkan produk berbusa dengan mengurangi tegangan permukaan pada antarmuka cairan atau udara serta dapat mencegah keruntuhan yang cepat dari busa. Peningkatan viskositas fase kontinu pada busa sangat penting. Agen berbusa akan membuat produk kaku, sehingga dapat menstabilkan struktur busa, contoh aplikasi dalam pembuatan *ice cream* dan pembuatan *marshmallow* (Schrieber and Gareis, 2007).

Kolagen banyak digunakan dalam kepentingan biomedis, farmasi, industri obat, industri makanan, dan industri kosmetik. Kolagen dalam industri kosmetik berperan sebagai zat aktif yang dapat memberikan manfaat untuk kulit seperti sebagai *anti-aging* (sebagai zat pencegah keriput), meningkatkan kelembapan pada kulit, menjaga kulit dari radikal bebas, dan menjaga elastisitas kulit. Kadar kolagen dalam tubuh manusia akan berkurang seiring dengan bertambahnya usia, terlebih apabila aktivitas yang semakin padat dan sering terpapar oleh sinar matahari (Aberoumand, 2012).

Kolagen banyak diproduksi dari kulit sapi dan babi, hal ini tidak sesuai dengan keyakinan agama dan etnis tertentu seperti Islam, Yahudi dan Hindu. Pada agama Hindu sapi dianggap suci dan agama Islam mengharamkan babi sebagai bahan olahan makanan maupun yang lainnya, sehingga pemanfaatan tulang ayam sebagai bahan baku dari kolagen merupakan sarana alternatif yang baik untuk masalah tersebut, seperti yang telah dijelaskan dalam al-qur'an sebagaimana Allah berfirman dalam Al Baqarah ayat 173 (Said, 2017):

إِنَّمَا حَرَّمَ عَلَيْكُمُ الْمَيْتَةَ وَالدَّمَ وَلَحْمَ الْخِنْزِيرِ وَمَا أُهِلَّ بِهِ لِغَيْرِ اللَّهِ ۖ فَمَنِ اضْطُرَّ غَيْرَ بَاغٍ وَلَا عَادٍ فَلَا إِثْمَ عَلَيْهِ ۚ إِنَّ اللَّهَ غَفُورٌ رَحِيمٌ

Artinya: “*Sesungguhnya Allah hanya mengharamkan bagimu bangkai, darah, daging babi, dan binatang yang (ketika disembelih) disebut (nama) selain Allah. Tetapi barangsiapa dalam keadaan terpaksa (memakannya) sedang dia tidak menginginkannya dan tidak (pula) melampaui batas, maka tidak ada dosa baginya. Sesungguhnya Allah Maha Pengampun lagi Maha Penyayang*”.

Ayat ini menjelaskan tentang keharaman memakan bangkai, darah mengalir, daging babi dan sembelihan yang dipersembahkan selain Allah swt. Bangkai merupakan binatang yang mati tidak dengan disembelih secara sah berdasarkan ketentuan agama. Darah yang aslinya mengalir, bukan limpa dan hati yang aslinya membeku. Daging babi dan bagian tubuh babi seperti tulang, lemak dan produk turunan lainnya. Babi merupakan binatang yang kotor berdasarkan lingkungan hidupnya. Babi memakan bangkai hewan lainnya, selain itu babi memakan kotorannya sendiri, hal ini mengakibatkan babi memiliki virus (*la rose*) di dalam tubuhnya yang menyebabkan kematian pada manusia, karena virus tersebut tidak dapat dihilangkan dengan cara pembakaran maupun pemasakan, oleh karena itu babi memiliki banyak kerugian jika dibandingkan dengan manfaatnya, sehingga dapat menggunakan tulang ayam sebagai sumber alternatif pembuatan kolagen yang halal (Shihab, 2004). Hal ini sebagaimana firman Allah SWT di dalam Al Baqarah ayat 168 yaitu:

يَا أَيُّهَا النَّاسُ كُلُوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا خُطُوَاتِ الشَّيْطَانِ إِنَّهُ لَكُمْ عَدُوٌّ مُّبِينٌ

Artinya: *“Hai sekalian manusia, makanlah yang halal lagi baik dari apa yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah syaitan, karena sesungguhnya syaitan itu adalah musuh yang nyata bagimu.”*

Ayat ini menjelaskan tentang perintah yang ditunjukkan kepada manusia untuk memilih dan memilah makanan yang hendak dikonsumsi, yaitu makanan tersebut harus bersifat halal, karena kehalalan suatu makanan merupakan unsur penting yang wajib diperhatikan oleh umat Islam terutama dalam hal memilih makanannya. Makanan tersebut harus baik (*thayyib*) artinya makanan itu tidak merugikan dan berbahaya bagi tubuh, maka dalam hal ini Haji Abdul Malik Karim Amrullah menjelaskan bahwa makanan yang halal adalah lawan dari makanan yang haram. Sebagaimana yang telah dijelaskan dalam al-Qur'an seperti, daging babi, darah, makanan yang tidak disembelih, yang disembelih untuk berhala dan lain sebagainya. Apabila di dalam al-Qur'an tidak dijelaskan pantangan-pantangan yang demikian maka makanan tersebut halal untuk dimakan. Manusia juga harus memperhatikan kualitas yang ada pada makanan tersebut, seperti mengandung beberapa gizi, kalori, vitamin, protein dan lain-lain, yang dibutuhkan oleh tubuh manusia. (HAMKA, 2015).

Kolagen dapat diperoleh melalui ekstraksi dari bahan-bahan yang mengandung kolagen dengan menggunakan asam-asam organik atau asam anorganik, perbedaan jenis asam akan menghasilkan perbedaan kualitas dan jumlah kolagen yang dihasilkan. Jumlah kolagen ikan tulang rawan adalah 10% dari total protein dan ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan ikan yang memiliki tulang dengan tekstur keras yaitu sekitar 3%. Kolagen yang diperoleh dari bahan baku tulang biasanya diproses dengan cara perendaman dalam larutan asam, karena

perendaman dengan pelarut asam memerlukan relatif lebih singkat jika dibandingkan dengan proses basa atau alkali, selain itu sebagian ikatan hidrogen dalam tropokolagen serta ikatan-ikatan silang yang menghubungkan tropokolagen satu dengan yang lain dihidrolisis menghasilkan rantai-rantai tropokolagen yang kehilangan *triple helix*nya, sehingga menjadi rantai tunggal (Kasim, 2013).

Kolagen yang melalui proses perendaman terlalu lama mengakibatkan kadar protein rendah, karena semakin banyak asam yang terdifusi dalam jaringan tulang sehingga struktur kolagen semakin terbuka dan ikatannya semakin lemah serta proses hidrolisis berjalan maksimal menghasilkan struktur gelatin dengan ikatan lemah, hal ini menyebabkan kolagen yang terekstrak lebih sedikit jika dibandingkan dengan gelatin, namun gelatin yang terekstrak terlarut bersama air cucian. Proses perendaman yang terlalu lama mengakibatkan peningkatan kadar abu, hal ini dikarenakan komponen mineral dalam kolagen akan larut bersama kolagen pada saat diekstraksi, sehingga kolagen kering juga mengandung mineral yang menyebabkan peningkatan rendemen dan mineral yang terkandung di dalam kolagen ketika diabukan tidak akan hilang tetapi jumlahnya akan meningkat (Ulfah, 2011).

Ekstraksi kolagen tulang ayam dengan 0,5M asam sitrat menghasilkan rendemen sebesar 4,1% dengan 30,4% kadar protein, 1,4% kadar lemak dan 0,7% bahan anorganik (Munasighe, 2014). Ekstraksi kolagen tulang ayam menggunakan 5% asam sitrat dengan lama perendaman 12, 24, 36 dan 48 jam menghasilkan rendemen secara berturut-turut sebanyak 18,83%, 16,91%, 16% dan 17,95% (Liu, 2001). Ekstraksi kolagen ikan tuna menggunakan asam sitrat diperoleh rendemen

sebesar 0,1% dan ekstraksi kolagen ikan pari menggunakan asam sitrat diperoleh rendemen sebesar 0,7% (kasim, 2013).

Ekstraksi kolagen cakar ayam dengan asam sitrat dengan lama perendaman 12 jam, 24 jam dan 36 jam menghasilkan rendemen secara berturut-turut sebesar 10,4%, 11,9% dan 12,1% (Prayitno, 2007). Ekstraksi kolagen pada kaki unggas dengan 0,5M asam sitrat menghasilkan 6,87% rendemen (cheng, 2009). Komposisi kimia kolagen tulang ayam yaitu 15,6% protein, 9,5% lemak, 14,7% mineral (Cansu, 2015). Syarat mutu kolagen kasar dari sisik ikan yaitu kadar air maksimal 12%, kadar abu maksimal 1%, dan pH 6,5-8 (Standar Nasional Indonesia, 2014).

Kolagen teripang *S. variagatus* memiliki nilai pH 7.37 (Alhana, 2015). Kolagen teripang gamma memiliki nilai pH 6,08 (Fawzya, 2016). Nilai pH dari kolagen tulang ikan gurami diperoleh 6,5 (Thridar, 2016). Kadar kelarutan pada kolagen gelembung renang ikan patin diperoleh sebesar 93,7% (Sitepu, 2019). Kadar abu ikan cunang diperoleh dengan presentase 0,27% (Kartika, 2016). Kadar abu ikan tuna sirip kuning diperoleh 0,29% (kaewdang, 2014). Kadar abu kolagen dari sisik haruan (*Channa striatus*) sebesar 0,71% (Pamungkas, 2018).

Berdasarkan latar belakang diatas diketahui bahwa ekstraksi kolagen dapat dilakukan dengan berbagai perlakuan, yang masing-masing perlakuan memiliki karakteristik yang berbeda, tergantung dari sumber kolagen dan metode ekstraksi. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengekstraksi kolagen dengan menggunakan tulang ayam sebagai bahan baku utama dan melakukan karakterisasi kolagen dengan melakukan uji rendemen, kadar air, kadar abu, nilai pH, kadar lemak, kadar protein dan kelarutan kolagen serta mengetahui gugus fungsi yang dihasilkan dari kolagen tulang ayam.



## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dirumuskan diatas, maka dapat dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana hasil ekstraksi dengan variasi lama perendaman asam sitrat terhadap kualitas kolagen tulang ayam broiler (*Gallus domesticus*)?
2. Bagaimana gugus fungsi kolagen tulang ayam broiler (*Gallus domesticus*) dari sampel terbaik yang dihasilkan?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui hasil ekstraksi dengan variasi lama perendaman asam sitrat terhadap kualitas kolagen tulang ayam broiler (*Gallus domesticus*).
2. Mengetahui gugus fungsi kolagen tulang ayam broiler (*Gallus domesticus*) dari sampel terbaik.

## 1.4 Batasan Masalah

Agar pembahasan tidak menyimpang dari tujuan, maka penulis menentukan batasan masalah sebagai berikut:

1. Sampel yang digunakan ialah tulang ayam broiler
2. Sampel yang digunakan dibeli dari pedagang di pasar besar Malang.
3. Pelarut yang digunakan adalah 5% asam sitrat
4. Lama perendaman 12, 24, 36 dan 48 jam.
5. Menentukan gugus fungsi kolagen menggunakan FTIR

### **1.5 Manfaat**

Adapun manfaat yang dapat diperoleh dari percobaan ini sebagai berikut:

1. Mengetahui dan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai metode ekstraksi kolagen.
2. Mengurangi limbah tulang ayam dan penggunaan babi sebagai bahan baku kolagen.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tulang Ayam**

Tulang merupakan bagian dari organ terkeras dalam tubuh. Tulang adalah suatu jaringan ikat atau jaringan penghubung yang dinamis, secara kontinu dapat diperbarui dan direkonstruksi. Tulang memiliki banyak kegunaan diantaranya adalah kandungan fosfat digunakan sebagai pupuk buatan, kalsium untuk komponen porselen, lemak digunakan sebagai bahan pembuatan lilin, sabun dan kandungan kolagen merupakan bagian terbanyak dalam tulang (Atmoko dan Pangestutu, 2011).



Gambar 2. 1 Tulang ayam (Sumber: <https://udbudi.com/>).

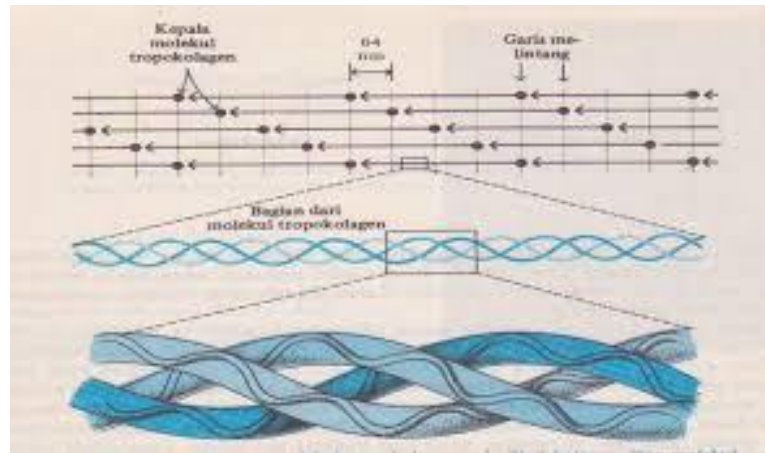
Tulang ayam sebagian besar terdiri atas protein kolagen dengan asam amino penyusun utamanya adalah prolin, glisin, dan alanin. Kondisi alami protein fibrier atau skleroprotein sulit untuk dicerna oleh enzim pepsin dan pankreatin (Winarno, 1997) atau tripsin dan kemotripsin menjadi asam-asam amino (Alais dqn Linden, 1991). Tulang ayam terdiri dari jaringan ikat yang mengandung sel-sel elemen fibrosa dan matriks ekstraseluler. Matriks ekstraseluler terdiri dari matriks organik dan anorganik. Matriks organik tulang terdiri atas zat-zat yang mengandung

kompleks molekul protein yang dikelilingi serat-serat kolagen (Forrest. 1975). Tulang tidak hanya memiliki sel dan serat akan tetapi tulang juga memiliki bahan pengisi. Bahan pengisi pada tulang berupa protein dan garam-garam mineral seperti fosfat (58,3%), kalsium karbonat (1,0%), magnesium fosfat (2,1%), kalsium florida (4.9%), mengandung kurang lebih (50%) air, sumsum merah dan kuning (15%). Sumsum tulang terdiri dari lemak (96%) (Septriansyah. 2000).

## 2.2 Kolagen

Kolagen berasal dari bahasa yunani yakni “*cola*” yang berarti lem (*glue*) dan “*genno*” yang berarti kelahiran (*birth*). Kolagen adalah protein serabut yang memberikan kekuatan dan fleksibilitas pada jaringan dan tulang, serta memegang peranan penting bagi jaringan lainnya, termasuk kulit dan tendon (Setyowati, 2015). Kolagen terdapat pada semua organ yang menampilkan kekuatan dan kekakuan, sehingga kolagen termasuk sebagai jaringan pengikat (Lehninger. 1993).

Jaringan pengikat berkolagen terdiri dari serat, pada struktur ini tersusun atas fibril kolagen terlihat seperti garis melintang. Fibril kolagen disusun dalam untaian paralel yang saling berhubungan silang dan berfungsi untuk menghasilkan struktur dengan kekuatan lenting yang tinggi tanpa kemampuan merenggang. Fibril kolagen dapat menyangga sedikitnya 10.000 kali beratnya sendiri. Kolagen salah satu golongan protein yang memiliki struktur serupa dengan beberapa variasi kolagen, tergantung pada sumber bahan pembuatan kolagen. Kolagen yang paling umum dikenal memiliki unit berulang pada 64nm (Katilli, 2009).



Gambar 2. 2 Susunan molekul tripokolagen pada fibril kolagen (Lehninger, 1993).

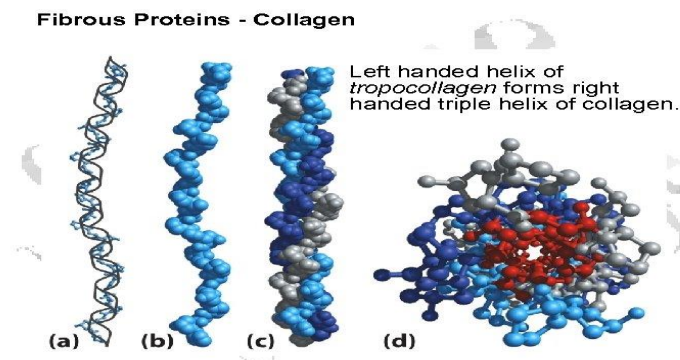
Kolagen memiliki tiga unit rantai  $\alpha$ -polipeptida yang saling berpilin membentuk struktur *helix* yang lebih dikenal dengan tropokolagen. Rantai dari ketiga peptide tropokolagen merupakan satuan *helix*, sudut dan ruang antaranya ditentukan oleh gugus R yang kaku dari sejumlah residu prolin dan hidroksiprolin. Rantai *helix* ganda ketiga dijembatani terhadap sesamanya oleh ikatan hidrogen dan sejenis ikatan kovalen silang yang tidak umum serta hanya dapat dijumpai pada kolagen. Jembatan ini dibentuk antara residu lisin pada kedua rantai. Tropokolagen *helix* ganda ketiga juga berdekatan dan saling berikatan silang, karena lekatnya lilitan *helix* ganda tiga tropokolagen dan ikatan silangnya protein ini tidak dapat meregang (Katilli, 2009). Satu zat yang diturunkan dari kolagen adalah gelatin, jika kolagen dididihkan strukturnya akan menjadi rusak secara permanen dan menghasilkan gelatin, karena adanya jumlah besar rantai samping yang hidrofil (menyukai air) dalam gelatin maka dalam larutan air membentuk gel (Katilli, 2009).

Kolagen merupakan protein tidak larut dalam pelarut-pelarut encer baik larutan garam, asam, basa ataupun alkohol. Kolagen salah satu protein penting, hal ini dikarenakan kolagen menghubungkan antara sel satu dengan sel yang lain (Hartati, 2010). Kolagen lebih mudah dicerna dalam bentuk yang sudah

terdenaturasi. Pemanasan serat kolagen dalam air pada suhu 60°C sampai 70°C dapat memperpendek ikatan antara  $\frac{1}{3}$  sampai  $\frac{1}{4}$  dari panjang asalnya, jika suhu dinaikkan sampai 80°C kolagen akan berubah menjadi gelatin, hal ini disebabkan adanya kerusakan pada struktur secara permanen sehingga sejumlah besar rantai samping yang hidrofil (suka air) akan membentuk gel (gelatin) (John. 1997).

Kolagen memiliki sifat-sifat umum dan khusus sebagai berikut (Katili, 2009):

1. Kolagen apabila dididihkan di dalam air akan mengalami transformasi dari bentuk untaian tidak larut dan tidak tercerna menjadi gelatin yaitu campuran polipeptida yang larut merupakan dasar pembentukan gelatin. Perubahan ini melibatkan hidrolisis beberapa ikatan kovalen pada kolagen, karena kolagen pada jaringan pengikat dan pembuluh yang menjadikan daging berbentuk liat
2. Kolagen mengandung kira-kira 35% glisin dan kira-kira 11% alanin, presentase asam amino ini cukup tinggi, yang lebih menonjol adalah kandungan prolin dan 4-hidroksiprolin yang tinggi yaitu asam amino yang jarang ditemukan pada protein selain kolagen dan elastin. Kandungan asam amino prolin dan hidroksiprolin mencapai 21% dari residu kolagen
3. Komposisi asam amino pada kolagen mengandung empat jenis asam amino yaitu glisin, alanin, 4-hidroksiprolin dan elastin, tetapi memiliki komposisi rendah hampir semua asam amino lain, yang merupakan dasar bagi kualitas gizi gelatin, sehingga kualitas gizi gelatin relatif rendah sebagai sumber protein pangan. Protein pangan yang paling baik adalah mengandung 20 jenis asam amino terutama golongan 10, yang biasa disebut dengan asam amino essensial.



Gambar 2. 3 Struktur kolagen. (Katili, 2009).

Struktur kolagen tersusun atas beberapa tingkat (Katili, 2009):

- a. Kerangka kovalen terdiri atas rantai-rantai protein individual dengan berat molekul sebesar 100.000 Da. Residu asam amino yang paling berlimpah adalah glisin dengan presentasi 33%, prolin 12%, dan asam-asam amino yang tidak umum seperti hidroksiprolin dan hidrosilisin
- b. Tiga rantai bergabung untuk membentuk *triple helix* dalam struktur sekunder. *Triple helix* merupakan satuan structural dasar dari kolagen dan disebut sebagai tropokolagen. Tropokolagen memiliki batang berdiameter 15 Å (1,5nm) dan panjang 3000 Å (300nm) dengan tebal 1,5 nm serta berat molekul 300.000 Da, pada *helix* tropokolagen ketiga benang terikat antara hidrogen satu dengan yang lain, dengan gugus perantaraan gugus peptida NH dari gugus peptida C-O pada rantai lain yang merupakan struktur *helix* yang berbeda dari *alpha helix*
- c. Satuan tropokolagen yang terangkai secara kovalen yang kemudian membentuk suatu ikatan atau berkas yang disebut dengan *microfibril*. Kolagen fibril dapat terbentuk dalam ikatan paralel dalam pembentukan urat atau dalam lembaran seperti ikatan pembentuk kertas dan dalam pembentukan kulit.

Tabel 2. 1 Syarat mutu dan keamanan kolagen kasar

Jenis uji	Satuan	Persyaratan
Kadar air	%	Maksimal 12
Kadar abu	%	Maksimal 1
pH	-	6,5-8

Sumber: SNI 8076-2014

## 2.3 Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen

### 2.3.1 Ekstraksi Kolagen

Ekstraksi adalah pemisahan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Ekstraksi juga merupakan proses pemisahan komponen dari suatu campuran homogen menggunakan pelarut cair (*solvent*). Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan kelarutan yang berbeda dari komponen-komponen dalam campuran (Melwita, 2014). Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan masa komponen zat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harbone, 1987). Ekstraksi yang digunakan ada beberapa metode seperti maserasi, perkolasi, dan destilasi uap.

Maserasi berasal dari bahasa latin “*macerace*” yang berarti mengairi atau melunakkan. Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang dilakukan melalui perendaman serbuk bahan dalam larutan pengeksrak. Metode ini dilakukan untuk mengekstrak zat aktif yang mudah larut dalam cairan pengeksrak (Hargono, 1986). Ekstraksi maserasi adalah proses ekstraksi sampel menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Prosedurnya dilakukan dengan merendam sampel dalam pelarut sesuai dalam wadah tertutup. Pengadukan dilakukan dapat meningkatkan kecepatan ekstraksi (Departemen RI, 2006).



Keunggulan metode maserasi adalah ekstraksi yang paling sederhana dan paling banyak digunakan, peralatannya mudah ditemukan serta pengerjaannya sederhana. Cara ini baik digunakan untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2007). Kelemahan dari maserasi adalah prosesnya membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut yang dapat berpotensi hilangnya metabolit. Beberapa senyawa juga tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut pada suhu kamar (27°C) sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas (Departemen RI. 2006).

Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi antara lain yaitu bahan baku, pemilihan pelarut, waktu proses ekstraksi, dan suhu ekstraksi. Ukuran bahan baku yang kecil akan menghasilkan hasil yang rendah. Pemilihan pelarut akan mempengaruhi waktu proses ekstraksi (Anam, 2010).

### **2.3.2 Karakterisasi Kolagen**

#### **2.3.2.1 Analisis Rendemen**

Rendemen adalah indikator untuk mengetahui efektif tidaknya metode yang diterapkan pada suatu penelitian (Kurnianingsih, 2004). Rendemen dihitung berdasarkan presentase berat sampel yang dihasilkan dari berat awal bahan baku yang digunakan. Rendemen suatu perlakuan dengan jumlah yang tinggi maka akan tinggi pula tingkat efektivitas perlakuan tersebut. Proses perendaman yang terlalu lama maka akan mengakibatkan semakin banyak ikatan kolagen *triple helix* yang terputus menjadi ikatan tunggal, sehingga lebih banyak ikatan kolagen yang terkonversi menjadi gelatin (Aryanti, 1998).

#### **2.3.2.2 Kadar Air**

Kadar air adalah presentase air yang terikat oleh suatu bahan terhadap berat kering ovennya. Penentuan kadar air dilakukan untuk mengetahui banyaknya air yang terikat oleh komponen padatan bahan tersebut. Kandungan air dalam suatu bahan dapat menentukan penampakan, tekstur dan kemampuan bertahan bahan tersebut terhadap serangan mikroorganisme yang dinyatakan dalam “*a<sub>w</sub>*” yaitu jumlah air bebas yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhannya (Sudarmadji, 1995).

#### **2.3.2.3 Kadar Abu**

Kadar abu menunjukkan jumlah bahan anorganik yang terdapat dalam bahan organik. Abu menunjukkan jumlah bahan anorganik yang tersisa selama proses pembakaran tinggi (suhu 600°C) selama 2 jam, jumlah abu dipengaruhi oleh jumlah ion-ion anorganik yang terdapat dalam bahan selama proses berlangsung (anamldin, 2007).

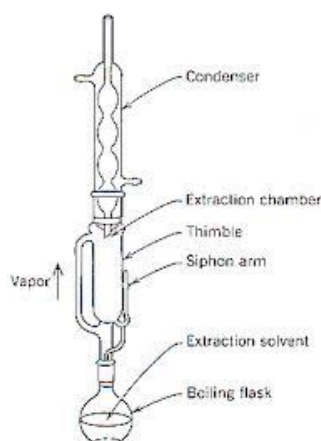
#### **2.3.2.4 Nilai pH**

pH didefinisikan sebagai logaritma aktivitas ion ( $H^+$ ) yang terlarut. pH adalah derajat keasaman yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasamaan atau kebasaan yang dimiliki oleh suatu larutan (Soleh. 2009).

#### **2.3.2.5 Kadar Lemak**

Lipid atau lemak berasal dari kata Yunani “*Lipos*” berarti penyusun hewan atau tumbuhan yang diberikan oleh sifat kelarutannya. Lipid tidak dapat larut

dengan air tetapi larut dengan larutan non-polar seperti eter (Hart, 2003). Kandungan lemak dapat ditentukan menggunakan pelarut organik, selain lemak komponen-komponen lain seperti fosfolipid, sterol, asam lemak bebas, karotenoid, dan pigmen lain akan ikut terlarut sehingga kadar lemak disebut lemak kasar (*Crude fat*). Cara analisis kadar lemak kasar dibagi menjadi dua yaitu kering dan basah. Salah satu analisis kadar lemak dengan cara kering adalah menggunakan metode ekstraksi soxhlet (Sudarmadji, 2007).



Gambar 2. 4 Alat ekstraksi soxhlet (Fatmawati & Oktaviani, 2014).

Soxhlet adalah suatu metode analisis lemak dengan prinsip kerja sebagai berikut, pada soxhletasi pelarut pengekstrak yang ada dalam labu soxhlet dipanaskan sesuai dengan titik didihnya, sehingga dapat menguap. Uap pelarut ini naik melalui pipa pendingin baik sehingga mengembun dan menetes pada bahan yang diekstraksi. Pelarut ini merendam bahan dan apabila tingginya sudah melampaui tinggi dari pipa pengalir pelarut, maka ekstrak pelarut akan mengalir ke labu soxhlet. Ekstrak yang terkumpul dipanaskan lagi sehingga pelarutnya akan menguap kembali dan lemak akan tertinggal dalam labu (Melwati, 2014).

#### **2.3.2.6 Kadar Protein**

Penetapan kadar protein dengan metode kjeldahl merupakan metode tidak langsung yaitu melalui penetapan kadar N dalam bahan yang disebut protein kasar (Sumantri, 2013). Prinsip metode kjeldahl adalah senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen tersebut mengalami oksidasi dan dikonversi menjadi ammonia dan bereaksi dengan asam pekat membentuk garam ammonium, kemudian ditambahkan basa untuk menetralkan suasana reaksi dan kemudian didestilasi dengan asam dan dititrasi untuk mengetahui jumlah N yang dikonversi. (Sumantri, 2013).

Dasar perhitungan penentuan menurut kjeldahl menyatakan bahwa umumnya protein alamiah mengandung unsur N rata-rata 16% (dalam protein murni). Kadar protein dilakukan melalui 3 tahapan yaitu destruksi, destilasi dan titrasi. Peningkatan kadar protein juga berhubungan dengan perubahan jumlah struktur ikatan asam amino yang menyusun protein kolagen. Kadar protein dipengaruhi oleh proses perendaman dimana reaksi pemutusan ikatan hidrogen dan pembukaan struktur kolagen terjadi secara optimal sehingga protein terekstraksi dan terlepas (Astawan dan Tita. 2003).

#### **2.3.2.7 Kelarutan Kolagen**

Kelarutan adalah campuran dari dua atau lebih fase yang homogen secara fisika dan kimia. Interaksi zat terlarut dengan pelarutnya didasarkan pada prinsip *like dissolves like* dimana zat ionik akan terlarut pada pelarut polar berdasarkan pemecahan ikatan kovalen serta mengurangi gaya tarik menarik antara ion-ion elektrolit, sedangkan senyawa nonpolar dapat melarutkan zat terlarut nonpolar

melalui interaksi dipol induksi, untuk pelarut semipolar dapat menginduksi derajat polaritas dalam molekul pelarut non polar. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kelarutan adalah sifat dari *solute* (zat terlarut) dan *solvent* (pelarut), *cosolvent* (zat penambah kelarutan), kelarutan, temperature, *salting out*, *salting in* dan pembentukan kompleks. Kecepatan kelarutan dipengaruhi oleh ukuran partikel, suhu dan pengadukan (Sinala, 2016).

### 2.3.2.8 Identifikasi Gugus Fungsi Kolagen dengan Spektrofotometer FTIR

FTIR (*fourier transform infrared*) merupakan salah satu instrumen yang digunakan untuk mendeteksi gugus fungsi dari mutu sampel. Cara kerja spektrofotometer inframerah dengan melewati sinar radiasi inframerah pada sampel sehingga molekul mengalami eksitasi dan sinar yang mengenai sampel ditransmisikan. Prinsip dari FTIR adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas penyerapan radiasi inframerah oleh sampel, penyerapan inframerah dapat menimbulkan getaran yang dapat mengindikasikan kelompok peptida dan rantai sampingnya, sehingga dapat memberikan informasi mengenai struktur protein. Kolagen merupakan protein yang memiliki ikatan peptida (Budiarti, 2019).

Tabel 2. 2 Karakteristik gugus fungsi kolagen hasil FTIR

Daerah serapan	Bilangan gelombang pada kolagen		
	Tulang ayam (Budiarti, 2019)	Ceker ayam (Hashim, 2014)	Ceker ayam (Prasetyo, 2018)
Amida A	3441	3412	3426
Amida B	Tidak Jelas	2925	2924
Amida I	Tidak Jelas	1745	1637
Amida II	1562	1600	1409
Amida III	Tidak jelas	1400	1241

Spektrum FTIR kolagen dari tulang ayam dapat diketahui bahwa adanya puncak serapan pada daerah serapan amida meliputi amida A, amida B, amida I, amida II dan amida III. Amida A dapat menunjukkan ikatan N-H stretching pada ikatan hidrogen gugus amida pada wilayah serapan  $3300-3500\text{ cm}^{-1}$ . Amida B menunjukkan adanya keberadaan gugus CH pada wilayah serapan  $2915-2935\text{ cm}^{-1}$ . Amida I menunjukkan adanya gugus C=O yang merupakan struktur sekunder protein pada wilayah serapan  $1600-1690\text{ cm}^{-1}$ . Amida II menunjukkan ikatan NH pada wilayah serapan  $1480-1575\text{ cm}^{-1}$  dan amida III menunjukkan adanya ikatan NH struktur helix kolagen pada wilayah serapan  $1229-1301\text{ cm}^{-1}$  (Budiarti, 2019).

## **BAB III**

### **METODOLGI**

#### **3.1 Pelaksanaan Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan pada tanggal 02 Agustus sampai tanggal 02 September 2020 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, dan pada tanggal 03 Desember 2020 sampai 08 Desember 2020 di Laboratorium Kimia Program Studi Kimia Universitas Islam Kadiri, Kediri.

#### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1 Alat**

Alat – alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kertas saring, seperangkat alat-alat gelas, pH universal, *freeze dry*, oven, desikator, cawan krus, tanur, pH meter, *stirrer magnetic*, selongsong kertas, kapas, Soxhlet, batu didih, labu kjedahl, *hot plate*, pendingin tegak, *mortar agathe*, dan FTIR.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah tulang ayam broiler (*Gallus domesticus*). Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5% asam sitrat, 1N NaOH, aquades, heksana, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, kjedahl tab, 30% NaOH, 0,1N HCl, indikator metil merah, 0,1N NaOH dan KBr.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan Penelitian dilakukan dengan *experimental laboratory*. Pengolahan data yang digunakan berdasarkan rancangan acak kelompok (RAK) untuk mengetahui pengaruh perendaman 5% asam sitrat. Faktor pengaruh dari perendaman asam sitrat sebagai berikut:

Sampel 12 : Lama perendaman 12 jam

Sampel 24 : Lama perendaman 24 jam

Sampel 36 : Lama perendaman 36 jam

Sampel 48: Lama perendaman 48 jam

Dari variasi tersebut, pada tahap selanjutnya dilakukan uji kualitas pada kolagen dari tulang ayam broiler dari hasil perlakuan yang meliputi rendemen, kadar air, kadar abu, nilai pH, kadar lemak, kadar protein, kelarutan kolagen dan identifikasi gugus fungsi kolagen menggunakan FTIR

### 3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan pada penelitian ini adalah:

1. Preparasi sampel dan ekstraksi kolagen
2. Uji kualitas kolagen
  - a. Rendemen
  - b. Kadar air
  - c. Kadar abu
  - d. Nilai pH



- e. Kadar lemak
- f. Kadar protein
- g. Kelarutan Kolagen
- h. Identifikasi gugus fungsi kolagen menggunakan spektrofotometer FTIR

### **3.5 Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.5.1 Preparasi dan Ekstraksi Kolagen (Liu, D. C, Chen, M. T and Liu, Y. K. 2001).**

Tulang ayam yang telah diperoleh dibersihkan dengan air mengalir hingga bersih. Tulang ayam selanjutnya dipotong-potong menggunakan pisau dengan ukuran 1 cm. Tulang yang telah dipotong kemudian diambil sebanyak 100 gram, selanjutnya direndam menggunakan larutan asam sitrat 5% dengan volume 8 kali dari berat sampel (1:8). Sampel (masing-masing 100 gram) direndam dengan 800 mL asam sitrat dan variasi lama perendaman 12, 24, 36, dan 48 jam. Tulang ayam selama perendaman disimpan dalam kulkas, selanjutnya tulang ayam disaring dengan kertas saring. Filtrat (cairan hasil penyaringan) ditambah larutan NaOH 1N sampai pH mencapai 7 (netral), kemudian filtrat tersebut didiamkan sampai kolagen menggumpal dan selanjutnya disaring dengan kertas saring dan dikeringkan menggunakan *freeze dry* hingga kering selama 24 jam. Perlakuan ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

### 3.5.2 Karakterisasi Kolagen

#### 3.5.2.1 Rendemen (AOAC, 2005).

Bobot basah kolagen dari masing-masing perlakuan ditimbang untuk menghitung rendemennya. Rendemen kolagen yang diperoleh dihitung berdasarkan total kolagen.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat Akhir}}{\text{Berat Awal}} \times 100\% \dots\dots\dots 3.1$$

#### 3.5.2.2 Kadar Air (SNI, 1992).

Kadar air ditentukan menggunakan metode gravimetri. Sampel sebanyak 2 gram dimasukkan ke botol timbang tertutup, kemudian dimasukkan dalam oven dengan suhu 105°C selama 3 jam, didinginkan dalam desikator dan ditimbang, diulangi hingga diperoleh bobot tetap. Hasil yang diperoleh dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Air} = \frac{W}{W_1} \times 100\% \dots\dots\dots 3.2$$

Keterangan

W = bobot cuplikan sebelum dikeringkan, dalam gram

W1 = berat akhir setelah dikeringkan, dalam gram

#### 3.5.2.3 Kadar Abu (AOAC, 2016).

Kadar abu ditentukan dengan menggunakan metode gravimetri. Cawan krus dikeringkan terlebih dahulu dalam oven pada suhu 105°C selama 60 menit. Cawan krus yang telah kering dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang hingga menunjukkan berat konstan. Sampel ditimbang sebanyak 0,1

gram dan dimasukkan ke dalam cawan penguap. Sampel dimasukkan dalam tanur dengan suhu 600°C selama 3 jam. Cawan berisi sampel didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang kadar abu ditentukan dengan rumus:

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{c - a}{b} \times 100\% \dots\dots\dots 3.3$$

Keterangan:

a : bobot cawan kosong

b : bobot sampel + cawan sebelum dikeringkan

c : bobot sampel + cawan setelah dikeringkan

#### **3.5.2.4 Nilai pH (AOAC, 2005).**

Analisis pH kolagen dengan 0,5 gram sampel dilarutkan dalam 25 mL aquades, dihomogenkan dengan *stirrer magnetic* hingga terlarut. Alat pH meter dinyalakan dan dibiarkan hingga stabil terlebih dahulu. Elektroda dicelupkan ke dalam sampel hingga beberapa saat sampai diperoleh angka yang stabil.

#### **3.5.2.5 Kadar Lemak (SNI, 1992).**

Analisis kadar lemak menggunakan metode ekstraksi soxhlet. Sampel ditimbang sebanyak 2 gram, kemudian dimasukkan ke dalam selongsong kertas yang dialasi dengan kapas. Selongsong kertas berisi sampel disumbat dengan kapas, kemudian dikeringkan ke dalam oven pada suhu tidak lebih dari 80°C selama kurang lebih 1 jam, selanjutnya dimasukkan ke dalam alat soxhlet yang telah dihubungkan dengan labu lemak berisi batu didih yang telah dikeringkan dan telah diketahui bobotnya. Ekstrak dengan heksana selama 6 jam, selanjutnya heksana

disulingkan dan ekstrak lemak dikeringkan ke dalam oven pengering dengan suhu 105°C, selanjutnya sampel didinginkan dan ditimbang, ulangi pengeringan hingga tercapai bobot tetap. Kadar lemak dihitung dengan rumus;

$$\% \text{ Lemak} = \frac{W - W_1}{W_2} \times 100\% \dots\dots\dots 3.4$$

Keterangan:

W = bobot sampel, dalam gram

W1 = bobot labu lemak sebelum ekstraksi, dalam gram

W2 = bobot labu lemak setelah ekstraksi

### **3.5.2.6 Kadar Protein (AOAC. 2016).**

Penentuan kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode kjeldahl. Metode kjeldahl terdiri atas tiga tahap. Tahap pertama adalah tahap destruksi. Sampel ditimbang 1 gram dan dimasukkan ke dalam labu kjeldahl 100 mL. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dipipet sebanyak 10 mL dan dimasukkan ke dalam labu kjeldahl, ditambahkan kjeltabs untuk mempercepat destruksi. Labu kjeldahl tersebut dipanaskan dengan api kecil setelah beberapa saat sedikit demi sedikit suhu dinaikkan. Destruksi dapat dihentikan pada saat larutan berwarna jernih kehijauan.

Hasil destruksi yang didapatkan kemudian didinginkan dan diencerkan dengan aquades 100 mL, setelah homogen dan dingin. Hasil tersebut diambil 5 mL dan dimasukkan ke dalam labu destilasi. Larutan NaOH 30% ditambahkan sebanyak 10 mL, kemudian uap dari cairan mendidih akan mengalir melalui kondensor menuju erlenmeyer penampung. Erlenmeyer penampung diisi dengan larutan HCl 0,1N sebanyak 10 mL dan telah ditetesi dengan indikator metil merah

sebanyak 5 tetes. Hasil destilasi dicek menggunakan kertas lakmus. Apabila sudah tidak bersifat basa maka penyulingan diberhentikan.

Tahap terakhir adalah titrasi. Hasil destilasi yang ditampung dalam erlenmeyer tersebut kemudian dititisi menggunakan larutan 0,1N. NaOH titik akhir titrasi ditandai dengan warna merah muda menjadi kuning. Titik akhir titrasi yang didapat kemudian dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Kadar Protein} = \frac{(mL \text{ HCl} - mL \text{ blanko}) \times N \text{ HCl} \times 14.007 \times 100\%}{\text{Berat Sampel}} \text{ fp ..... 3.5}$$

### 3.5.2.7 Kelarutan Kolagen (Sitepu, 2019).

Sampel kolagen kering ditimbang sebanyak 0,1 gram kemudian dilarutkan ke dalam 10 mL aquades dan dilakukan pengadukan, kemudian larutan disaring dengan menggunakan kertas saring bebas abu dan di oven selama 60 menit dengan suhu 100°C kemudian kelarutan kolagen dihitung dengan rumus :

$$\text{Kelarutan \%} = \frac{\text{Berat Kolagen t erlarut}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \text{ ..... 3.6}$$

### 3.5.2.8 Identifikasi Gugus Fungsi Kolagen dengan Spektrofotometer FTIR

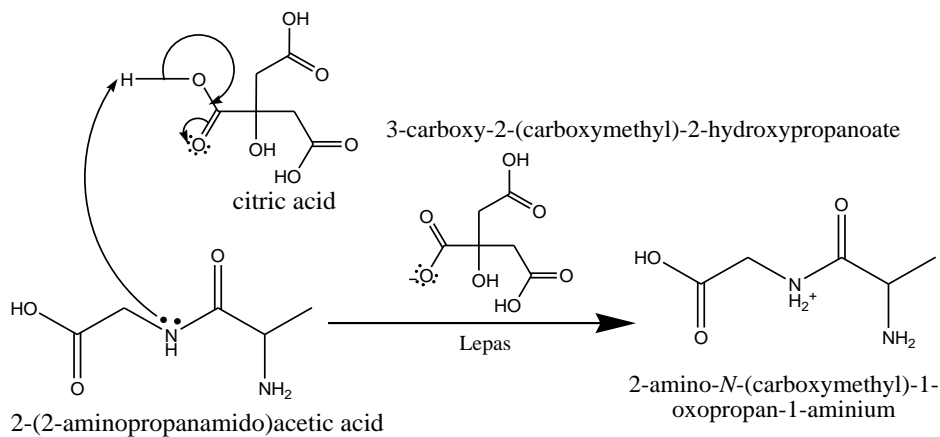
Sampel kolagen ditimbang sebanyak 1 mg, kemudian dicampurkan dengan KBr sebanyak 100 mg, kemudian dihaluskan dengan menggunakan mortar *agate*. Campuran antara KBr dan sampel yang telah halus dimasukkan ke dalam cetakan untuk dijadikan pelet kemudian ditimpa dengan pompa hidrolik dengan tekanan 80 torr (8-20 torr per satuan waktu) selama 10 menit, kemudian pelet dapat dianalisis menggunakan FTIR dengan panjang gelombang 4000-500 cm<sup>-1</sup>.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Ekstraksi Kolagen

Ekstraksi kolagen tulang ayam menggunakan metode maserasi. Ekstraksi kolagen dilakukan dengan cara preparasi sampel terlebih dahulu yang bertujuan untuk menghilangkan daging dan kotoran yang terdapat pada sampel. Sampel tulang ayam yang telah bersih di potong kecil-kecil antara 1-3 cm yang bertujuan untuk mempermudah dan mempercepat proses ekstraksi. Sampel tulang ayam yang sudah dipotong dengan ukuran 1-3 cm dimasukkan ke dalam pelarut asam sitrat dengan perbandingan 1:8 dengan lama perendaman 12, 24, 36, dan 48 jam. Tujuan dari perendaman tulang ayam dengan menggunakan 5% asam sitrat hal ini adalah untuk mengekstrak kolagen yang terdapat pada tulang ayam. Reaksi yang terjadi pada saat ekstraksi kolagen dengan asam sitrat sebagai berikut:



Gambar 4. 1 Mekanisme reaksi ekstraksi kolagen dengan perendaman asam.

Perendaman asam akan menyebabkan pengembangan pada tulang, hal ini disebabkan terjadinya gaya elektrostatik antara gugus polar pada serat kolagen dengan  $H^+$  dari asam atau terbentuknya ikatan hidrogen antara gugus nonpolar pada serat kolagen dengan  $H^+$  dari asam (Astiana, 2016). Pelarut asam mengakibatkan matriks tulang ayam rusak (ditandai dengan melunaknya tulang ayam). Matriks yang rusak akan memudahkan pelarut untuk masuk ke dalam tulang dan melarutkan protein kolagen (Poedjiadi, 1994).

Protein kolagen memiliki gugus NH. Gugus NH ini merupakan amina sekunder yang memiliki sepasang elektron. Pasangan elektron dalam orbital amina yang terikat disumbangkan ke atom H pada larutan asam sitrat, amina yang bersifat basa lemah dan menerima sebuah proton dari asam sitrat. Gugus karboksilat pada asam sitrat akan melepaskan ion  $H^+$  sedangkan gugus amina akan menerima ion  $H^+$ , sehingga gugus asam amino dalam larutan dapat membentuk ion bermuatan positif. Asam amino yang membentuk muatan positif akan bersifat asam (Poedjiadi, 1994).

Penyaringan setelah perendaman ditujukan untuk menghilangkan pengotor yang terdapat pada kolagen. Filtrat yang telah didapatkan ditambahkan 1N NaOH hingga pH 7 atau netral yang berfungsi untuk presipitasi kolagen. Presipitasi agar menghasilkan kolagen yang maksimal maka pH presipitan harus mendekati pH isoelektrik (pI) dari kolagen. pH isoelektrik kolagen adalah 6,7 atau mendekati pH netral. NaOH memiliki sifat ionik dan kovalen (Astiana, 2016).

Sifat ionik dan kovalen NaOH lebih tinggi jika dibandingkan dengan protein yang mengikat air. Jumlah air yang terikat pada protein menurun, sehingga menyebabkan gaya tarik menarik. Gaya tarik menarik antara molekul protein lebih besar dari pada gaya tarik menarik protein dengan air, sehingga terjadi pengendapan

pada protein. Penyaringan kedua dilakukan untuk memisahkan antara kolagen dan filtrat. Kolagen yang telah dipisahkan dengan filtrat dilakukan *freeze dry* hingga kering untuk menghilangkan kandungan air didalam kolagen (Astiana, 2016).

Kolagen tulang ayam merupakan kolagen yang halal untuk dikonsumsi. Penggunaan tulang ayam sebagai bahan baku merupakan sumber alternatif dari kolagen berbahan baku babi. Agama Islam babi diharamkan sebagai bahan baku olahan makanan maupun yang lainnya. Makanan halal adalah makanan yang baik untuk dikonsumsi dan tidak membahayakan bagi tubuh manusia dari segi kesehatan. Sebagaimana dalam surat Al Maidah Ayat 3:

حُرِّمَتْ عَلَيْكُمُ الْمَيْتَةُ وَالدَّمُ وَلَحْمُ الْخِنْزِيرِ وَمَا أَهْلَ لَغَيْرِ اللَّهِ بِهِ ۖ وَالْمُنْخَنِقَةُ وَالْمَوْقُوذَةُ  
وَالْمُتَرَدِّيَةُ وَالنَّطِيحَةُ وَمَا أَكَلَ السَّبُعُ إِلَّا مَا ذَكَّيْتُمْ ۚ وَمَا ذُبِحَ عَلَى النُّصُبِ وَأَنْ  
تَسْتَقْسِمُوا بِالْأَزْلَامِ ۚ ذَٰلِكُمْ فِسْقٌ ۚ الْيَوْمَ يَيسُ الَّذِينَ كَفَرُوا مِنْ دِينِكُمْ فَلَا تَحْشَوْهُمْ  
وَاحْشَوْنِ ۚ الْيَوْمَ أَكْمَلْتُ لَكُمْ دِينَكُمْ وَأَتِمَمْتُ عَلَيْكُمْ نِعْمَتِي وَرَضِيتُ لَكُمُ الْإِسْلَامَ  
دِينًا ۚ فَمَنِ اضْطُرَّ فِي مَخْمَصَةٍ غَيْرِ مُتَجَانِفٍ لِإِثْمٍ ۚ فَإِنَّ اللَّهَ غَفُورٌ رَحِيمٌ

Artinya: *Diharamkan bagimu (memakan) bangkai, darah, daging babi, dan (daging) hewan yang disembelih bukan atas (nama) Allah, yang tercekik, yang dipukul, yang jatuh, yang ditanduk, dan yang diterkam binatang buas, kecuali yang sempat kamu sembelih. Dan (diharamkan pula) yang disembelih untuk berhala. Dan (diharamkan pula) mengundi nasib dengan azlam (anak panah), (karena) itu suatu perbuatan fasik. Pada hari ini orang-orang kafir telah putus asa untuk (mengalahkan) agamamu, sebab itu janganlah kamu takut kepada mereka, tetapi takutlah kepada-Ku. Pada hari ini telah Aku sempurnakan agamamu untukmu, dan telah Aku cukupkan nikmat-Ku bagimu, dan telah Aku ridai Islam sebagai agamamu. Tetapi barangsiapa terpaksa karena lapar, bukan karena ingin berbuat dosa, maka sungguh, Allah Maha Pengampun, Maha Penyayang.*

Ayat diatas menjelaskan bahwa makanan-makanan yang diharamkan Allah.

Makanan yang diharamkan salah satunya adalah daging babi, termasuk semua



anggota tubuhnya. Allah memerintahkan agar kita memakan makanan yang halal dan baik. Halal yang dimaksudkan adalah halal makanannya dan halal cara memperolehnya sedangkan “thayyib” adalah baik, dari segi kemanfaatannya dapat bermanfaat bagi tubuh, mengandung gizi, vitamin dan protein yang sesuai dengan kebutuhan tubuh, karena makanan yang tidak baik atau yang diharamkan, jika dikonsumsi tubuh akan merusak kesehatan. Ayam merupakan binatang yang halal untuk dimakan, selain itu ayam juga memberi manfaat bagi tubuh seperti mengandung protein yang baik untuk tubuh. Bagian ayam yang dapat dimanfaatkan seperti daging dan tulang. Tulang ayam dimanfaatkan karena memiliki kandungan air, lemak, kolagen dan zat anorganik. Kolagen memberikan manfaat pada tubuh seperti meningkatkan kelembaban, menjaga elastisitas kulit dan menjaga kulit dari radikal bebas (Aberoumand, 2012).

## **4.2 Karakterisasi Kolagen**

### **4.2.1 Rendemen**

Rendemen merupakan salah satu parameter yang penting dalam pembuatan kolagen, semakin besar jumlah rendemen yang dihasilkan maka semakin efisien perlakuan yang diterapkan. Rendemen adalah hasil perbandingan berat kering kolagen yang dihasilkan dengan berat tulang ayam yang digunakan sebagai bahan baku. Hasil rendemen dari perendaman 100 gram tulang ayam menggunakan pelarut 5% asam sitrat sebagai berikut:

Tabel 4. 1 Rendemen ekstraksi kolagen tulang ayam

Sampel kolagen (lama perendaman)	Rendemen (%)	Standar Deviasi
12 jam	3,61	2,16
24 jam	5,18	1,72
36 jam	5,64	1,43
48 jam	5,16	1,90

Sampel 12, 24 dan 36 jam mengalami kenaikan hal ini dapat disebabkan oleh lama perendaman, semakin lama perendaman dengan asam sitrat rendemen kolagen semakin tinggi rendahnya rendemen dapat diindikasikan bahwa kelarutan kolagen tulang ayam kurang maksimal. Hasil sampel dengan lama perendaman 48 jam menurun sebesar 5,16%, hal ini disebabkan oleh adanya denaturasi protein karena terlalu lama perendaman dengan larutan asam sitrat, sehingga protein mengalami pemecahan pada struktur protein dan ikut terlarut pada filtrat (Khirzin, 2019).

Ekstraksi kolagen menggunakan pelarut asam sitrat diperoleh 4,1% untuk tulang ayam dan 6,2% untuk kulit ayam (Munasinghe, 2014). Ekstraksi kolagen dengan asam sitrat pada kaki unggas menghasilkan rendemen sebanyak 6,87% (Cheng, 2009). Ekstraksi kolagen cakar ayam dengan asam sitrat dengan lama perendaman 12 jam, 24 jam dan 36 jam menghasilkan rendemen secara berturut-turut sebesar 10,4%, 11,9% dan 12,1% (Prayitno, 2007). Ekstraksi kolagen menggunakan asam sitrat diperoleh sebesar 0,1% pada ikan tuna dan 0,7% ikan pari (Kasim, 2013).

Hasil ekstraksi kolagen tulang ayam dengan asam sitrat menggunakan variasi lama perendaman apabila dibandingkan dengan penelitian Munasinghe (2014) diperoleh hasil rendemen yang lebih besar. Tingginya hasil ekstraksi pada penelitian ini dikarenakan pemotongan ukuran tulang ayam yang lebih kecil dan penggunaan tulang ayam yang segar. Hasil rendemen yang diperoleh cukup kecil

apabila dibandingkan dengan penelitian Prayitno (2007), hal ini disebabkan metode yang digunakan Prayitno adalah menggiling tulang hingga halus kemudian dilakukan ekstraksi, selain itu penggunaan sampel ceker ayam yang mudah untuk dihaluskan jika dibandingkan dengan tulang ayam.

Penggilingan tulang ayam hingga halus dapat dijadikan faktor yang dapat mempengaruhi hasil rendemen pada kolagen. Pengecilan ukuran bertujuan untuk memperluas permukaan bahan (Tambun, 2016). Ukuran partikel yang semakin kecil dapat memperluas kontak antara permukaan padatan *inert* dengan pelarut, maka semakin pendek jarak difusi antara *solute* dengan *solvent*, sehingga kecepatan ekstraksi semakin tinggi (Prayudo, 2015).

Tabel 4.1 menunjukkan adanya standar deviasi. Standar deviasi atau simpangan baku adalah salah satu cara mengukur variasi sekelompok data kuantitatif. Nilai standar deviasi menunjukkan nilai selisih antara ulangan, semakin kecil nilai standar deviasi maka nilai suatu pengukuran semakin akurat, karena nilai antar ulangan tidak jauh berbeda, sehingga semakin kecil standar deviasi semakin baik. Sampel yang memiliki standar deviasi terkecil pada sampel 36 jam yaitu dengan nilai 1,43. Sampel dengan standar deviasi terbesar adalah sampel 12 jam, dengan standar deviasi sebesar 2,16 hal ini juga dapat disebabkan bahwa sampel 12 jam memiliki rendemen rata-rata yang cukup kecil yaitu sebesar 3,61% ((Ananda dan Fadhli, 2018).

#### **4.2.2 Kadar Air**

Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung di dalam kolagen yang dinyatakan dalam satuan persen. Air salah satu parameter yang sangat penting pada

bahan makanan, karena kadar air dapat mempengaruhi penampakan, tekstur dan cita rasa. Kadar air semakin tinggi maka semakin lunak suatu bahan makanan tersebut, dan apabila semakin rendah kadar air maka semakin keras suatu bahan makanan tersebut. Kadar air pada kolagen dapat mempengaruhi daya simpan kolagen, karena semakin tinggi kadar air di dalam kolagen maka semakin rendah daya simpan kolagen, dan apabila semakin rendah kadar air maka semakin lama daya simpan kolagen (Nurhidayah, 2019). Hasil analisis kadar air pada ekstraksi kolagen tulang ayam sebagai berikut:

Tabel 4. 2 Hasil kadar air kolagen tulang ayam

Sampel kolagen (lama perendaman)	Kadar air kolagen (%)	Standar Nasional Indonesia
12 jam	14,50	Maksimal 12%
24 jam	19,77	
36 jam	15,87	
48 jam	14,66	

Berdasarkan tabel diatas dapat diketahui bahwa keempat sampel kolagen tulang ayam menunjukkan kadar air yang sangat tinggi jika dibandingkan dengan syarat mutu kolagen (Standar Nasional Indonesia, 2014). Kadar air yang cukup tinggi dapat disebabkan oleh penggunaan konsentrasi asam yang cukup tinggi. Konsentrasi asam yang tinggi mempunyai kemampuan yang besar dan kuat dalam menghidrolisis kolagen, sehingga menyebabkan terjadinya pemendekan rantai-rantai peptida yang membuat penyerapan air semakin tinggi (Devi, 2017). Kadar air yang diperoleh pada kolagen sisik ikan bandeng dan sisik ikan nila sebesar 24,50% dan 19,05% (Nurhidayah, 2019). Kadar air kolagen *S. variegatus* diperoleh sebesar 13,64% (Alhana, 2015).

### 4.2.3 Kadar Abu

Kadar abu merupakan campuran dari komponen anorganik atau mineral yang terdapat pada suatu bahan pangan. Kadar abu dapat menunjukkan total mineral yang terdapat pada suatu bahan makanan. Kadar abu berkaitan dengan mineral suatu bahan (Nurhidayah, 2019). Hasil kadar abu dari ekstraksi kolagen tulang ayam diperoleh sebagai berikut:

Tabel 4. 3 Hasil kadar abu kolagen tulang ayam

Sampel kolagen (lama perendaman)	Kadar abu kolagen (%)	Standar Nasional Indonesia (%)
12 jam	0,23	Maksimal 1%
24 jam	0,23	
36 jam	0,26	
48 jam	0,23	

Berdasarkan tabel data diatas dapat diketahui bahwa keempat sampel kolagen tersebut sesuai dengan Standar Nasional Indonesia dengan syarat mutu kolagen untuk kadar abu pada sampel kolagen sebesar  $\leq 1\%$ . Kadar abu yang tinggi dapat disebabkan oleh sampel yang digunakan memiliki kandungan mineral yang tinggi. Bagian tulang ayam yang keras dan semakin tua, akan menyebabkan semakin padat mineral-mineral penyusun tulang ayam, hal ini mengakibatkan proses ekstraksi cenderung lebih sulit dan menyebabkan kadar abu cenderung meningkat (khirzin, 2019).

### 4.2.4 Nilai pH

pH kolagen merupakan derajat keasaman yang dijadikan salah satu parameter penting dalam standar mutu kolagen. Pengukuran pH dilakukan dengan cara menimbang 0,5 gram sampel dan ditambahkan 50 mL aquades kemudian diaduk

menggunakan *magnetic stirrer*, hal ini dilakukan agar kolagen terlarut dengan air, sehingga kolagen dapat diukur menggunakan pH meter (Devi, 2017). Pengukuran pH kolagen diperoleh data sebagai berikut:

Tabel 4. 4 Pengukuran pH kolagen tulang ayam

Sampel kolagen (lama perendaman)	pH kolagen	Standar Nasional Indonesia
12 jam	8,08	6,5-8
24 jam	8,06	
36 jam	8,00	
48 jam	7,17	

Berdasarkan tabel data diatas dapat diketahui bahwa sampel kolagen tulang ayam dengan lama perendaman 36 dan 48 jam masih dalam ambang batas standar nasional Indonesia yaitu dengan rentan pH antara 6 sampai 8. Nilai pH pada lama perendaman 12 dan 24 jam melebihi ambang batas hal ini dapat disebabkan terlalu banyak penambahan NaOH saat proses pengendapan atau presipitasi kolagen. Nilai pH juga berpengaruh terhadap kelarutan kolagen. Kolagen akan mudah larut dalam kondisi asam.

Kelarutan yang lebih tinggi pada pH lebih dari 6, hal ini dikarenakan kolagen tulang ayam memiliki derajat *crosslink* yang rendah. Kolagen dapat mengembang karena daya ikat pada struktur molekulnya (ikatan saling silang) melemah saat diberikan perlakuan pH dibawah 4 atau dinaikkan pH 10. Ikatan saling silang (*crosslink*) akan lemah pada suhu 50°C dan memudahkan terjadi proses degradasi ikatan saling silang (*crosslink*) *triple helix* menjadi ikatan rantai tunggal  $\alpha$ -*helix*, serta terjadi kerusakan ikatan hidrogen pada ikatan rantai *triple helix* kolagen (Devi, 2017). Nilai pH kolagen teripang *S. variagatus* memiliki nilai pH 7.37 (Alhana,

2015). Kolagen teripang gamma memiliki nilai pH 6,08 (Fawzya, 2016). Nilai pH dari kolagen tulang ikan gurami diperoleh 6,5 (Thridar, 2016).

#### 4.2.5 Kadar Lemak

Metode yang digunakan untuk pengujian kadar lemak adalah ekstraksi langsung. Analisis kadar lemak berfungsi untuk mengetahui jumlah lemak yang terkandung pada suatu bahan. Kadar lemak dapat mempengaruhi perubahan mutu pada bahan pangan selama penyimpanan. Kerusakan lemak yang utama diakibatkan oleh proses oksidasi. Oksidasi asam lemak tidak jenuh akan menghasilkan peroksida dan selanjutnya akan berbentuk aldehida, hal ini yang menyebabkan timbulnya bau dan rasa tengik (Poedjiadi, 1994).

Kolagen yang bermutu tinggi diharapkan memiliki kadar lemak yang rendah. Kadar lemak yang rendah ini memungkinkan kolagen dapat disimpan dalam waktu relatif lama tanpa menimbulkan bau dan rasa, sehingga semakin rendah kadar lemak suatu bahan, maka semakin bagus kualitas suatu bahan (Santoso, 2015). Hasil yang diperoleh dari ekstraksi kolagen tulang ayam sebagai berikut:

Tabel 4. 5 Hasil kadar lemak kolagen tulang ayam

Sampel kolagen (lama perendaman)	Kadar lemak kolagen (%)
12 jam	0,26
24 jam	0,25
36 jam	0,21
48 jam	0,13

Berdasarkan data tabel diatas dapat dilihat bahwa adanya penurunan kadar lemak, penurunan kadar lemak pada sampel kolagen tulang ayam dapat disebabkan oleh lamanya perendaman asam sitrat, hal ini dikarenakan sifat asam sitrat yang

dapat mengikat lemak, sehingga kadar lemak mengalami penurunan seiring dengan lamanya perendaman (Santoso, 2015). Penggunaan NaOH pada proses presipitasi dapat mempengaruhi kadar lemak, karena NaOH termasuk senyawa alkali. Penggunaan alkali dapat menghilangkan keberadaan lemak pada kolagen (Sitepu, 2019).

#### 4.2.6 Kadar Protein

Kadar protein dapat ditentukan dengan metode kjedahl. Metode kjedahl merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengetahui analisis protein pada suatu bahan pangan. Analisis kadar protein dilakukan untuk mengetahui jumlah protein yang terkandung di suatu bahan. Kandungan protein dalam suatu bahan sangat bervariasi baik jumlah maupun jenisnya. Penentuan protein dapat dilakukan dengan menentukan jumlah nitrogen (N) yang terdapat pada kolagen, semakin tinggi jumlah kadar protein pada suatu bahan, maka semakin baik kualitas bahan tersebut (Khirzin, 2019). Hasil penelitian ekstraksi kolagen tulang ayam dengan perendaman 5% asam sitrat diperoleh sebagai berikut:

Tabel 4. 6 Kadar protein kolagen tulang ayam

Sampel kolagen (lama perendaman)	Kadar protein kolagen (%)
12 jam	1,27
24 jam	4,36
36 jam	9,61
48 jam	2,81

Berdasarkan tabel data diatas dapat dilihat bahwa pada sampel kolagen dengan lama perendaman 12, 24 dan 36 jam memiliki kenaikan kadar protein yang disebabkan semakin lama proses perendaman semakin tinggi protein yang



terekstrak, akan tetapi pada sampel lama perendaman 48 jam memiliki penurunan signifikan yang disebabkan adanya denaturasi protein karena terlalu lama perendaman dengan larutan asam sitrat, sehingga protein mengalami pemecahan pada struktur protein dan ikut terlarut pada filtrat (Khirzin, 2019).

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi tingginya kadar protein adalah sumber bahan baku dan metode ekstraksi. Kolagen yang dihasilkan hewan segar dan muda cenderung mudah diekstrak dan memiliki kandungan protein yang tinggi, selain itu bagian tulang juga sangat mempengaruhi, bagian tulang yang keras dan semakin tua hewan yang digunakan maka semakin padat mineral penyusun tulang, hal ini yang dapat menyebabkan proses ekstraksi cenderung lebih sulit yang menyebabkan kadar abu cenderung meningkat dan protein mengalami penurunan (Khirzin, 2019).

Kadar protein kolagen tulang ayam yaitu 15,6% protein, hal ini disebabkan adanya proses penghilangan mineral-mineral (demineralisasi) pada tulang ayam (Cansu, 2015). Kadar protein kolagen tulang ayam diperoleh sebesar 30,4%, hal ini disebabkan pada proses pemotongan tulang ayam dengan ukuran 0,5 cm, dilakukan proses penghilangan protein nonkolagen (seperti alkali fوسفatase, osteonektin dan fibronektin) dan bahan anorganik pada tulang ayam (Munasinghe, 2014).

Kadar protein literatur apabila dibandingkan dengan kadar protein kolagen tulang ayam dengan variasi asam cenderung rendah karena pelarut asam sitrat yang digunakan hanya menggunakan 5% asam sitrat dan tidak melalui proses pretreatment (penghilangan protein non kolagen) sehingga protein kolagen tidak terlarut yang mengakibatkan rendahnya kadar protein (Suptijah, 2018).

#### 4.2.7 Kelarutan Kolagen

Kelarutan (*solubility*) merupakan kemampuan zat terlarut (suatu zat tertentu) untuk larut dalam suatu pelarut. Analisis kelarutan kolagen dilakukan untuk mengetahui kelarutan kolagen. Kelarutan kolagen dalam air dingin diketahui cukup buruk karena adanya ikatan saling silang dalam struktur helixnya, sehingga dilakukan analisis kelarutan pada kolagen. agar diketahui presentase kolagen terlarut dengan air (Nining, 2020).

Kelarutan kolagen dapat diketahui dengan cara menimbang 0,1 gram kolagen dilarutkan ke dalam 10 mL aquades kemudian diaduk hal ini bertujuan untuk membantu mempercepat kelarutan. Larutan yang telah diaduk dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring bebas abu yang telah ditimbang yang bertujuan untuk memisahkan antara residu dengan zat yang terlarut, selanjutnya dilakukan pengovenan selama 60 menit dengan suhu 105°C bertujuan untuk mengeringkan residu yang telah disaring, dilakukan penimbangan yang bertujuan untuk mengetahui berat residu (Sitepu, 2019).

Tabel 4. 7 Kelarutan kolagen tulang ayam

Sampel kolagen (lama perendaman)	Kolagen terlarut (%)
12 jam	55
24 jam	88
36 jam	39
48 jam	45

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa sampel kolagen dengan lama perendaman 24 jam diperoleh hasil tertinggi dengan kadar 88% hal ini menunjukkan bahwa kolagen dengan lama perendaman 24 jam memiliki potensi dalam melarutkan atau melepaskan rantai-rantai polipeptida yang menjadi

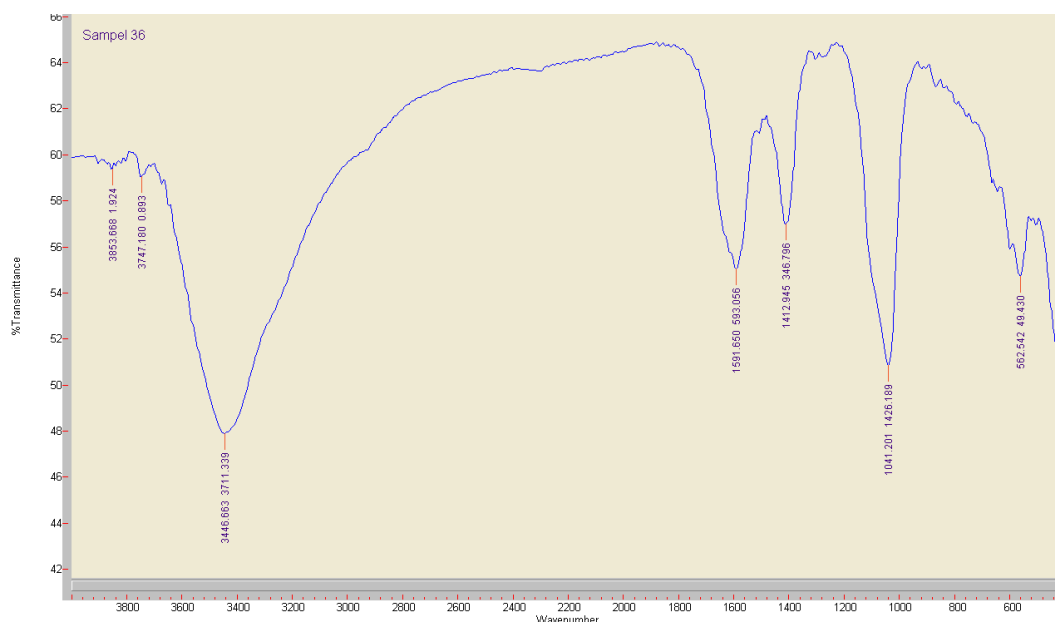
penyusun kolagen menjadi tropokolagen yang terdapat pada matriks. dan sampel kolagen 36 jam terendah dengan hasil kelarutan 39% (Sitepu, 2019). Kelarutan yang rendah disebabkan karena kolagen merupakan protein fiber. Protein fiber adalah protein yang berbentuk serat atau serabut dengan rantai polipeptida memanjang pada satu sumbu. Sifat umum protein fiber adalah tidak larut dalam air dan sukar diuraikan oleh enzim, hal inilah yang menyebabkan rendahnya kelarutan pada kolagen (Poedjiadi, 1994).

#### **4.2.8 Identifikasi Gugus Fungsi Kolagen dengan Spektrofotometer FTIR**

Analisis kolagen menggunakan FTIR bertujuan untuk membuktikan adanya senyawa kolagen dalam penelitian ini. Identifikasi gugus fungsi kolagen menggunakan FTIR merupakan teknik analisis yang cepat, nondestruktif, sensitif, preparasi sederhana dan penggunaan reagen kimia serta pelarut dalam jumlah yang sedikit. Prinsip kerja FTIR adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas penyerapan radiasi inframerah oleh sampel. Penyerapan radiasi inframerah menimbulkan getaran yang dapat mengindikasikan kelompok peptida dan rantai sampingnya, sehingga dapat memberikan informasi mengenai struktur protein (Budiarti, 2019).

Kolagen tergolong dalam protein yang memiliki ikatan peptida. Keberadaan gugus amida merupakan gugus fungsi yang dapat dideteksi oleh FTIR. Setiap jenis amida akan memberikan sinyal pada bilangan gelombang spesifik, karena keberadaan gugus tertentu (Budiarti, 2019). Sampel yang digunakan untuk identifikasi kolagen tulang ayam merupakan sampel terbaik dari penelitian ini yaitu sampel 36 jam. Sampel 36 jam dipilih dengan parameter pengujian terbaik seperti rendemen,

kadar protein dan kelarutan kolagen, dengan kadar tertinggi, sehingga didapatkan data spektrum seperti dibawah ini:



Gambar 4. 2 Spektrum hasil pengukuran kolagen dari tulang ayam sampel 36 jam menggunakan spektrofotometer FTIR

Tabel 4. 8 Spektrum FTIR kolagen tulang ayam sampel 36 jam

Amida	Bilangan gelombang (cm <sup>-1</sup> )			Keterangan vibrasi
	Sampel kolagen tulang ayam 36 jam	Struktur sekunder protein (Kong, 2007)	Kolagen tulang ayam (Budiarti, 2019)	
Amida A	3446	3300	3300-3500	Vibrasi <i>stretching</i> NH
Amida I	1591	1600-1690	1600-1690	Vibrasi <i>stretching</i> C=O
Amida II	1412	1480-1575	1480-1575	Vibrasi CN <i>stretching</i> , NH <i>bending</i>
Amida III	1300	1229-1301	1229-1301	Vibrasi CN <i>stretching</i> , NH <i>bending</i>

Berdasarkan spektrum FTIR diatas dapat diketahui bilangan gelombang kolagen di daerah  $3446\text{ cm}^{-1}$  untuk amida A dengan vibrasi stretching NH. Amida A menunjukkan adanya gugus NH dan ikatan hidrogen. Amida I mengalami pergeseran gelombang pada daerah  $1591\text{ cm}^{-1}$ . Amida I merupakan indikasi adanya gugus C=O yang merupakan struktur sekunder protein (Muyonga, 2004).

Amida II memiliki bilangan gelombang  $1412\text{ cm}^{-1}$ . Amida II mengalami pergeseran bilangan gelombang yang lebih rendah dari referensi amida II, yang mengindikasikan keberadaan dari ikatan hidrogen yang banyak dan kuat pada struktur kolagen. Semakin tinggi ikatan hidrogen dalam struktur *triple helix*, menyebabkan semakin tinggi susunan struktur dari kolagen. Penurunan pembacaan panjang gelombang disebabkan oleh adanya ikatan N-H pada struktur  $\alpha$ -*helix* (Prasetyo, 2018).

Amida III dengan bilangan gelombang  $1300\text{ cm}^{-1}$  tidak terlihat begitu jelas. Hal ini yang mengindikasikan adanya renggangan CN dan deformasi NH (Hardikawati, 2016). Serapan amida III menandakan kolagen tersebut memiliki struktur *triple helix* yang merupakan ciri khas dari kolagen, hal ini menunjukkan bahwa kolagen masih belum terdenaturasi menjadi gelatin (Safithri, 2019).

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian diatas dapat disimpulkan bahwa ekstraksi kolagen tulang ayam, menghasilkan kolagen rendemen terbaik sebesar 5,64%, kadar protein tertinggi 9,61%, serta kelarutan kolagen sebesar 39% dari lama perendaman 36 jam. Sampel terbaik yang diperoleh dilakukan identifikasi kolagen menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi yang dihasilkan kolagen tulang ayam. Kolagen tulang ayam dengan lama perendaman 36 jam menghasilkan 4 gugus fungsi yaitu Amida A, I, II dan III dengan bilangan gelombang yang berurutan 3446, 1591, 1412 dan  $1300\text{ cm}^{-1}$ .

#### **5.2 Saran**

Berdasarkan penelitian ini dalam proses ekstraksi tulang ayam tidak melalui proses pretreatment (penghilangan protein non kolagen dan penghilangan mineral-mineral yang terdapat dalam tulang ayam), dapat dilakukan proses pretreatment dengan menggunakan alkali (NaOH). Penggunaan konsentrasi asam sitrat yang terlalu rendah, sehingga dapat ditingkatkan ke konsentrasi yang lebih tinggi misalnya 13%. Proses ekstraksi kolagen dilakukan di dalam lemari pendingin dengan suhu  $4-5^{\circ}\text{C}$ . Diharapkan penelitian selanjutnya memperoleh hasil dan pengujian kolagen dengan data yang lebih bagus.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aberoumand, A. 2012. Comparative Study Between Different Methods of Collagen Extraction from Fish and its Properties. *World Applied Science Journal*. Vol. 16. No. 3.
- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. ITB Press. Bandung.
- Alais & Linden. 1991. *Food Biochemistry*. Ellis Harwood. London.
- Alhana. 2015. Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen dan Nanokolagen dari Daging Teripang Gamma (*Stichopus Variegatus*). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Amiruldin, M. 2007. Pembuatan dan Analisis Karakteristik Gelatin dari Tulang Ikan Tuna (*Thunnus albacores*). *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian. Bogor.
- Anam, C. 2010. Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale*) Kajian dari Ukuran Bahan Pelarut, Waktu dan Suhu. *Jurnal Pertanian MAPETA*. Vol. XII No. 2. 77-144.
- Ananda, Rusdi dan Fadhli, Muhammad. 2018. *Statistik Pendidikan: Teori dan Praktik dalam Pendidikan*. CV Widya Puspita. Medan.
- Aryanti, R. 1998. Kajian Proses Produksi Gelatin dari Tulang Domba Menggunakan Proses Asam. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 2005. Official Methods of Analysis (18Edn). Association of Official Analytical Chemist Inc Mayland. USA.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 2016. Official Methods of Analysis (20Edn). Association of Official Analytical Chemist Inc Mayland. USA
- Astawan, M. dan Tita, A. 2003. Pengaruh Jenis Larutan Perendaman Serta Metode Pengeringan Terhadap Sifat Fisik, Kimia dan Fungsional Gelatin dari Kulit Cucut. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. XIV. No. 1.
- Astiana, I., Nurjanah dan Nurhayati, T 2016. Karakteristik Kolagen Larut Asam Dari Kulit Ikan Ekor Kuning. *Jurnal PHP*. Bogor. Vol 19. No. 1.
- Atmoko, D. I. dan R. D. Pangestuti. 2011. Produksi Gelatin dari Tulang Sapi dengan Proses Hidrolisa. Penelitian Fakultas Teknik Universitas Diponegoro Semarang. Semarang.
- Bustillos, R. J. A., C. W. Olson, B. chiou, E. Yee, P. J., Bechtel and T.H Mchugh.

2006. Water Vapor Permeability of Mammalian and Fish Gelatin Films. *Journal of Food Science*. 4 (71). 202-207
- Budiarti, Eka. 2019. Kolagen dari Limbah Ayam (*Gallus domesticus*) terhadap Aktivitas Anti Aging Secara *In Vitro*. *Jurnal Alchemy*. FMIPA IPB Bogor. Vol. 35 No. 1.
- Cansu, U. and Boran G. 2015. Optimization of a Multi-Step Prosedure for Isolation of Chicken Bone Collagen. *Journal Korean Society for Food Science of Animal Resource*. Vol. 35. No. 4.
- Cheng, F. Y., Hsu F. W., Chang H. S. dan Sakara R. 2009. Effect of Different Acids on The Extraction of Pepsin-Solubilsed Collagen Containing Melanin from Silky Flow Feet. *Jounal Food Chemistry*. 563-567.
- Devi, Hilda L. N. A., Suptijah P., Nurilmala M. 2017. Efektifitas Alkali dan Asam Terhadap Mutu Kolagen dari Kulit Ikan Patin. *Jurnal Masyarakat Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. IPB. Bogor. Vol. 20 No .2.
- Fawzuya, Y. Nuri. Chasannah, E. Poernomo, A. dan Khirzhin, M.H. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Parsial Kolagen dari Teripang Gamma (*Stichopus variegatus*). *JPB Kelautan dan Perikanan*. Vol. 11. No.1.
- Forrest. J. C., E. D. Aberle, H. B Hendrik, M. D. Judge and R. A. Markel. 1975. Principle of Meat Science. W.H. Freeman and Co, San Fransisko.
- Girindra A. 1993. *Immunokimia*. PAU-IPB. Bogor.
- Gelse, K. Poschl, E. and Aigner T. 2003. Collagens-structure, function and biosynthesis. *Review*. 1531-1546.
- Gomes, G. 2002. Structural and Physical Properties of Gelatin Extracted from Different Marine species: a Comparative Study. *Food Hydrocol*. 16: 25-34.
- HAMKA. 2015. *Tafsir Al – Azhar: Jilid 1*. Jakarta: Gema Insani.
- Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia (Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan), diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Edisi 2, hal. 47, 49, 70, ITB, Bandung.
- Hardikawati, Tutut., Puspawati N. M., dan Ratnayani K, 2016. Kajian Pengaruh Variasi Konsentrasi Asam Sitrat Terhadap Kekuatan Gel Produk Gelatin Kulit Ayam Broiller Dikaitkan dengan Pola Protennya. *Jurnal Kimia*. FMIPA Udayana. Vol. 10. No. 1.



- Hargono, D. 1986. sediaan Gealnik. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Hartati L, dan Kuniasari, L. 2010. Kajian Kolagen dari Limbah Sisik Ikan secara Enzimatis. *Momentum*. 6 (1). 33-35.
- Hasdar, M. 2011. Karakteristik *Edible Film* Diproduksi dari Kombinasi Gelatin Kulit Kaki Ayam Soy Protein Isolate. *Junal Buletin Perternakan*. Vol. 35. No. 5.
- Hashim, P. Ridwan MSM, Bakar J. 2014. Isolation and Characterization of Collagen From Chicken Feet. *International Journal Bioengineering and Life Sciences*. Vol 8 No.3.
- Hart, H. Craine. L. E. and Hart, D. J. 2003. Kimia Organik. Edisi Kesebelas. Erlangga. Jakarta.
- John, M. D. 1997. *Kimia Makanan Terjemahan Kokasih Padmawinata*. ITB. Bandung.
- Kasim, S. 2013. Pengaruh Variasi Jenis Pelarut Asam Pada Ekstraksi Kolagen Dari Ikan Pari (*Himantura gerrardi*) Dan Ikan Tuna (*Thunnus sp*). *Majalah Farmasi dan Farmatologi*. Makassar. Vol. 17. No. 2.
- Kartika, I Wayan Darya, T. Wini, A. I K. Mudite. 2016. Karakterisasi Kolagen dari Limbah Gelembung Renang Ikan Cunang. Hasil Ekstraksi Asam dan Hidrotermal. *Jurnal Masyarakat Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. IPB. Bogor. Vol. 19 No. 3.
- Katili, A. S. 2009. Struktur dan Fungsi Protein Kolagen. *Jurnal Pelangi Ilmu*. Vol. 2. No. 3.
- Kelly L, Gores, Ronald T., and Raines. 2010. Review Artikel Prolyl-4-Hidroksilase. USA. University of Wisconsin Madison.
- Khirzin, M. H. Ton S, dan Fatkhurohman. 2019. Ekstraksi dan Karakterisasi Gelatin Tulang Itik Menggunakan Metode Ekstraksi Asam. *Jurnal Sains Perternakan Indonesia*. Poltek Negeri Banyuwangi. Banyuwangi. Vol 14. No. 2.
- Kurnianingsih, N. 2004. Kolagen Sebagai Pengisi Tubuh. Laporan Utama Cakrawala. Edisi Kamis, 30 September 2004.
- Kaewdang, O., Benjakul s., Kaewmanee, T. dan Khisimura H. 2014. Characteristics of Collagens From The Swim Bladders of Yellowfin Tuna (*Thunnus Albacares*). *Food Chemistry*. 155 (264-270).

- Kaewudom P., B. Soottawat and K. Kongkam. 2015. Effect of Bovine and Fish Gelatin in Combination with Microbial transglutaminase on Gel Properties of Threadfin Bream Surimi. *International Aquatic Research*. 4(12).
- Kong, Jilie dan Yu, Shaoning. 2007. Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures. *Acta Biochemica et Biophysica Sinica*. Departement of Chemistry. Fudan University. Shanghai.
- Lee, C. H., A. Singla, and Lee Y. 2001. Biomedical Applications of Collagen. *International Journal of Pharmaceutics*. 221:1-22.
- Lehninger, A. L. 1993. *Dasar-Dasar Biokimia (Terjemah)*. Erlangga. Jakarta
- Li, S. T. 1993. Collagen Biotechnology and its Medical Application. *Biomedic*, 646-657.
- Li, M. 2015. Process Optimation and Characterizations of Enzyme-Extracted and Acid-Extracted Collagen from Scale of Bighead Carp. *Applied Mechanics and Materials*. Vol 727-728: 21-24.
- Liu, D. C., Chen, M. T, and Liu,Y.K. 2001. Optimum Condition of Extracting Collagen from Chicken Feet and its Characteristics. *Journal Departement of Animal Science*. National Chung-Hsing University.
- Martianingsih, N. 2009. Analisis Sifat Kimia Fisik dan Termal Gelatin dari Ekstraksi Kulit Ikan Pari (*Himnatura Gerrard*) Melalui Variasi Jenis Larutan Asam. *Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*. ITS. Surabaya.
- Melwita, E., Fatmawati, dan Oktaviani S. 2014. Ekstraksi Minyak Biji Kapuk Dengan Metode Ekstraksi Soxhlet. *Teknik Kimia*. No. 1, Vol. 20.
- Miskah, S. 2010. Pengaruh Konsentrasi  $\text{CH}_3\text{COOH}$  &  $\text{HCl}$  Sebagai Pelarut Dan Waktu Perendaman Pada Pembuatan Gelatin Berbahan Baku Tulang atau Kulit Kaki Ayam. *Jurnal Teknik Kimia*. Universitas Sriwijaya. Vol. 17. No. 1.
- Munasinghe, K. M., Schwarzm J. G. and Nyame, A. K. 2014. Chicken Collagen from Low Market Value By-Products as an Alternate Source. *Journal of food Proccesing*. Departement of Biological Science. Salisbury University USA.
- Muralidharan. N., Shakila R. J., S. Durairaj, and Jeyasekaran G, 2011. Skin, Bone, and Muscle Collagen Extraction from The Trash fish, Leather Jacket (*Odonus Niger*) and Their Characterization. *Original Article*.

- Musdalifah, S. 2016. Dekolagenasi Limbah Tulang Paha Ayam Broiler (*Gallus domesticus*) oleh Natrium Hidroksida (NaOH) untuk Penentuan Kadar Kalsium (Ca) dan Fosfat (PO<sub>4</sub>). *Jurnal Al – Kimia*. Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin; Makassar. Vol. 4. No. 2.
- Muyonga, J. H., Doudu G. and Cole C. G. B. 2004. Extraction and Physico-chemical Characterization of Nile Perch (*Nates niloticus*) Skin and Bone Gelatin. *Food Hydrocolloid*. 18: 582-591
- Muyonga, J. H., Doudu G. and Cole C. G. B. 2004. Flourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopic Study of Acid Soluble Collagen and Gelatin From Skin and Bones of Young and Adult Nile Perch (*Nates niloticus*). *Food Chemistry*. 86. 325-335.
- Nining. 2020. Pemanfaatan Kolagen Laut dalam Sistem pengantaran Obat. *Majalah Farmasetika*. Universitas Muhamadiyah Prof. Dr. HAMKA. Vol 5. No. 5.
- Nurhidayah B., S. Eddy, E. E. Andi. 2019. Kandungan Kolagen Sisik Ikan Bandeng (*Chanos-Chanos*) dan Sisik Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*). *Jurnal Biologi Makassar*. FMIPA Universitas Hasanudin. Vol. 4 No. 1.
- Pamungkas, Bagus Fajar, Supriyadi, M. Agnes, I. Retno. 2018. Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen Larut Asam dan Pepsin dari Sisik Haruan (*Channa striatus*) Kering. *Jurnal Masyarakat Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Mulawarman. Samarinda. Vol. 21 No. 3.
- Poedjiadi, Anna. 1994. Dasar-Dasar Biokimia. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Prasetyo, Naufal Bayu. 2018. Isolasi dan Karakterisai Fisikokimia Kolagen dari Ceker Ayam dengan Metode Hidro-Ekstraksi. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Bogor.
- Prayitno. 2007. Kolagen Cakar Ayam dengan Berbagai Jenis Larutan Asam dan Lama Perendaman. *Jurnal Animal Production*. Purwokerto. Vol. 9. No.2.
- Prayudo, A. Nico. Novian, Okky. Setyadi dan Antaresti. 2015. Koefisien Transfer Massa Kurkumin dari Temulawak. *Jurnal Ilmiah Widya Teknik*. Jurusan Teknik Kimia. Univresitas Katolik Widya Mandala Surabaya. Vol. 14. No. 01.
- Rosaini, H. 2015. Penetapan Kadar Protein Secara Kjeldahl Beberapa Makanan Olahan Kerang Remis (*Corbiculla moltkiana prime*) dari Danau Singkarak. *Jurnal Farmasi Higea*. Stifarm Padang; Padang. Vol 7. No. 2

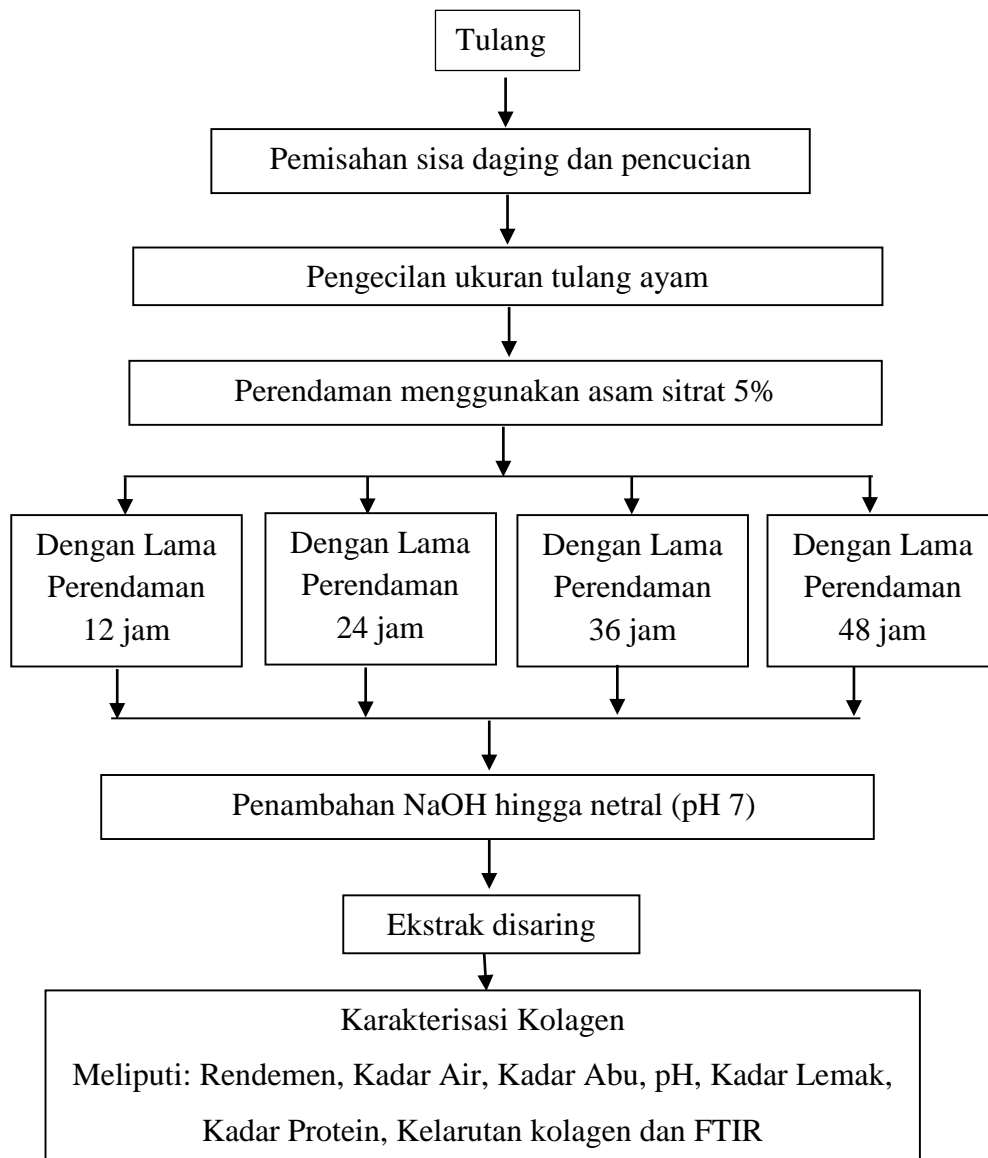
- Rybicki, EP, venom EC, MD James, Sharon JR. 1996. *Molecular Biology Thecniques Manual Ed ke-3*. University of Capetown.
- Said, M. I. 2017. Evaluasi Sifat – Sifat Kolagen Tulang Broiler Pada Penerapan Kombinasi Berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*. Makassar. Vol. 12. No.2.
- Safithri, Mega. Tarman, K. Suptijah, P. dan Widowati, N. 2019. Karakteristik Fisikokimia Kolagen Larut Asam dari Kulit Ikan Parang-Parang (*Chirocentrus dorab*). *JPHPI*. Vol. 22. No. 3.
- Santoso, Candra. Sarti, Titi. Sumardianto. 2015. Perbedaan Penggunaan Konsentrasi Larutan Asam Sitrat dalam Pembuatan Gelatin Tulang Eawan Ikan Pari Mondol (*Himantura gerrardi*). *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. Jurusan Perikanan UNDIP. Jawa Tengah. Vol 4. No. 2.
- Sasmitaloka, K. S. 2017. Kajian Potensi Kulit Sapi Kering Sebagai Bahan Dasar Produksi Gelatin Halal. *Journal Buletin Peternakan*. Bogor. Vol. 41. No. 3.
- Schrieber, reinhard dan Gareis, Herbert. 2007. *Gelatine Handbook: Theory and Indutrial Practice*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Jerman.
- Septriasyah, C. 2000. Kajian Proses Pembuatan Gelatin dari Tulang Ayam dalam Kondisi Asam. *Skripsi*. Jurusan Ilmu Produksi Ternak. Fakultas Ilmu Perternakan. IPB. Bogor
- Setyowati, H. 2015. Potensi Nanokolagen Limbah Sisik Ikan sebagai *Cosmeceutical*. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. Yogyakarta. Vol. 12.No. 1:30-40.
- Sinala, Santi. 2019. *Farmasi Fisik Cetakan Pertama*. Kemenkes Indonesia. Jakarta.
- Sitepu, Gressty Sari Br. Santoso, Joko dan Trilaksani, Wini. 2019. Kolagen Gelembung Renang Ikan Patin (*Pangasius sp*) Ekstraksi Asam. *Jurnal Masyarakat Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. IPB. Vol. 22. No. 2.
- Shihab, M. Quraish. 2004. Tafsir Al-Misbah. *Jurnal Lentera Hati*. Tangerang. Vol. 12 cet. II.
- Skierka, E. and Saldowska M. 2007. The Influence of Different Acid and Pepsin on The Extractability of Collagen from The Skin of Baltic COD (*Gadus Morhua*). *The Journal of Food Chemistry*. 150: 1302-1306.

- Soleh. 2009. Potensi dan Karakteristik Mutu Fisikokimia Gelatin Kulit Ikan Marlin (*makaira sp*). *Skripsi*. IPB. Bogor.
- Standar Nasional Indonesia 01-2891-1992. 1992. Cara Uji Makanan dan Minuman. BSN. Jakarta.
- Strayer, L. 1995. *Biochemistry*. W.H Freeman and Company. New York and Basingstoke.
- Sudarmadji, S, Haryono B, dan Suhardi. 1995. *Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Sudarmadji, S. 2007. analisa Bahan Makanan dan Pertanian . Liberty. Yogyakarta
- Sumantri dan Rohman. 2013. Analisis Kimia Pangan. Universitas Gajah Mada Yogyakarta: UGM Press.
- Suptijah, P. Indriani D, Wardoo SE. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Kolagen dari Kulit Ikan Patin (*Pangasius sp*). *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*. Vol. 8 No. 1.
- Tambun, Rondong. P. Limbong, Harry. Pnem, Cristika dan Manurung, Ester. 2016. Pengaruh Ukuran Partikel Waktu dan Suhu pada Ekstraksi Fenol dari Lengkuas Merah. *Jurnal Teknik Kimia*. Universitas Sumatera Utara. Vol. 5. No. 4.
- Thridar, Noorman Adhi. 2016. Perbandingan Produksi Kolagen dari Sisik dan Tulang Ikan Gurami (*Osphronemus gourami*) Secara Kimia dan Enzimatis. *Artikel Teknologi Pangan*. Universitas Pasundan Bandung.
- Ulfah, M. 2011. Pengaruh Konsentrasi Larutan Asam Asetat dan Lama Waktu Perendaman Terhadap Sifat-Sifat Gelatin Ceker Ayam. *Agritech*. No. 3. Vol. 31.
- Winarno, F. G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Winarno, F. G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wulandari. 2016. Karakterisasi Fisikokimia Kolagen yang diisolasi dengan Metode Hidro-ekstraksi dan Stabilitas Nanokolagen Kulit Ikan Gabus (*Channa striata*). *Thesis*. Institut Pertanian Bogor: Bogor.

## LAMPIRAN 1

### SKEMA KERJA

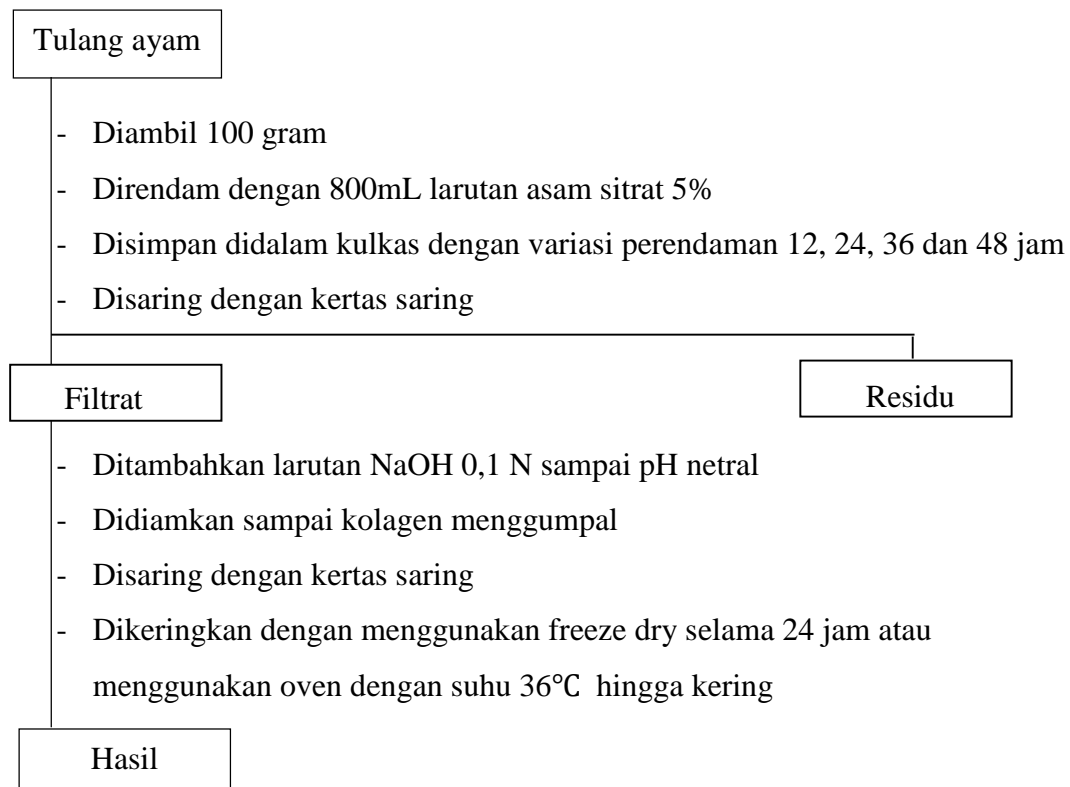
#### Lampiran 1. Rancangan Kerja



## LAMPIRAN II

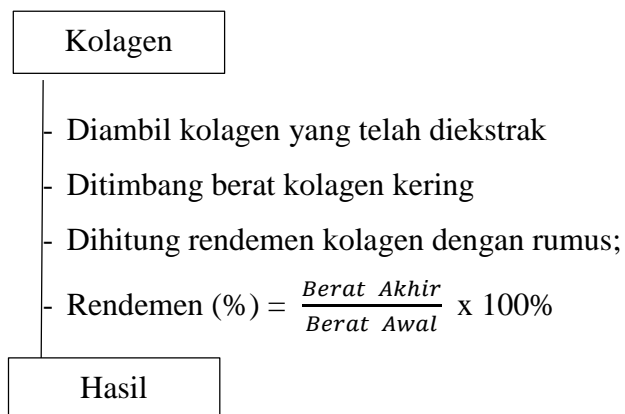
### DIAGRAM ALIR

#### 1. Ekstraksi Sampel



#### 2. Karakterisasi Kolagen

##### 2.1 Rendemen Kolagen



## 2.2 Kadar Air

Kolagen

- Diambil kolagen
- Ditimbang sebanyak 2 gram
- Dimasukkan ke dalam botol timbang tertutup
- Dioven pada suhu 105°C selama 3 jam
- Didinginkan ke dalam desikator
- Ditimbang
- Diulangi hingga berat konstan
- Dihitung kadar air kolagen dengan rumus
- Kadar Air =  $\frac{W}{W_1} \times 100\%$

Hasil

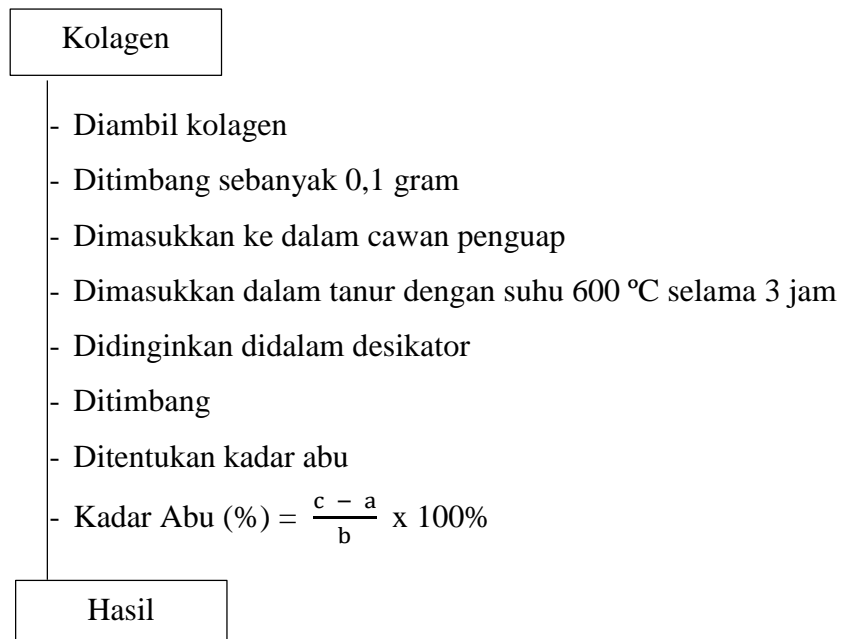
## 2.3 Kadar Abu

Cawan Penguap

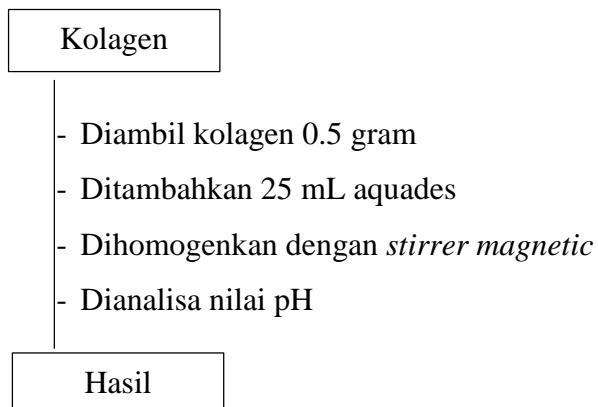
- Dikeringkan didalam oven pada suhu 105°C selama 60 menit
- Dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit
- Dihitung berat konstan

Hasil

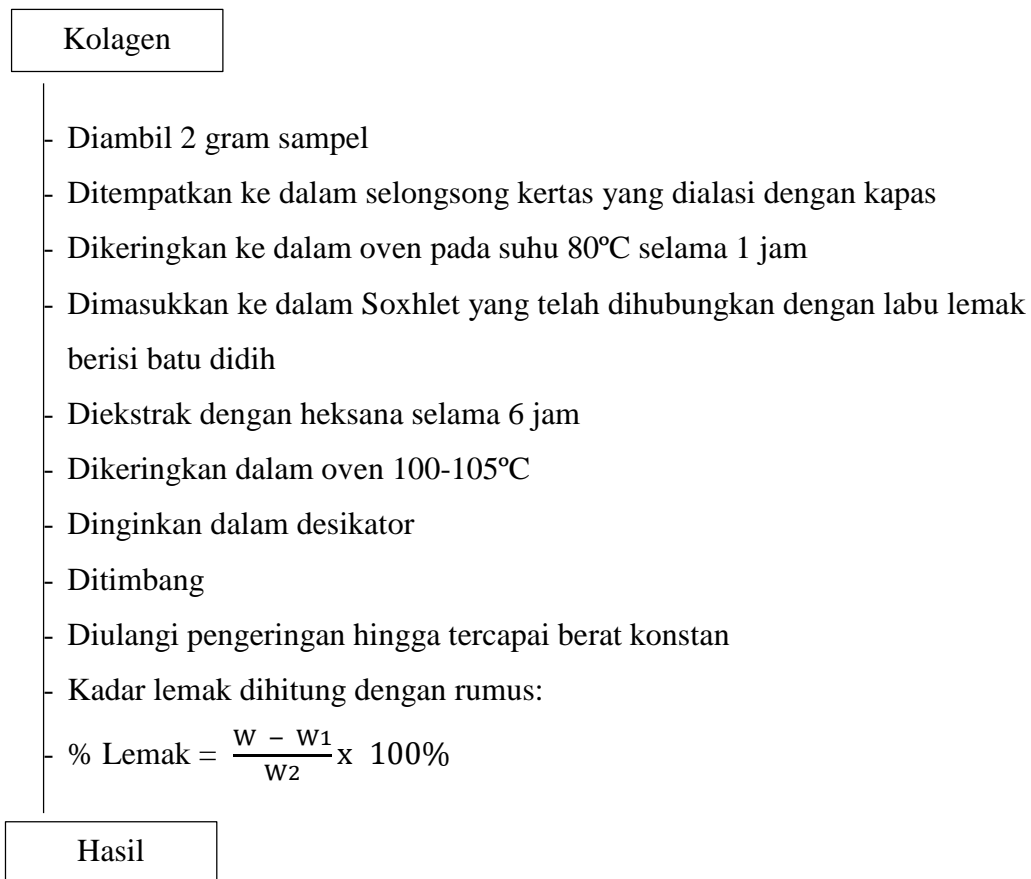




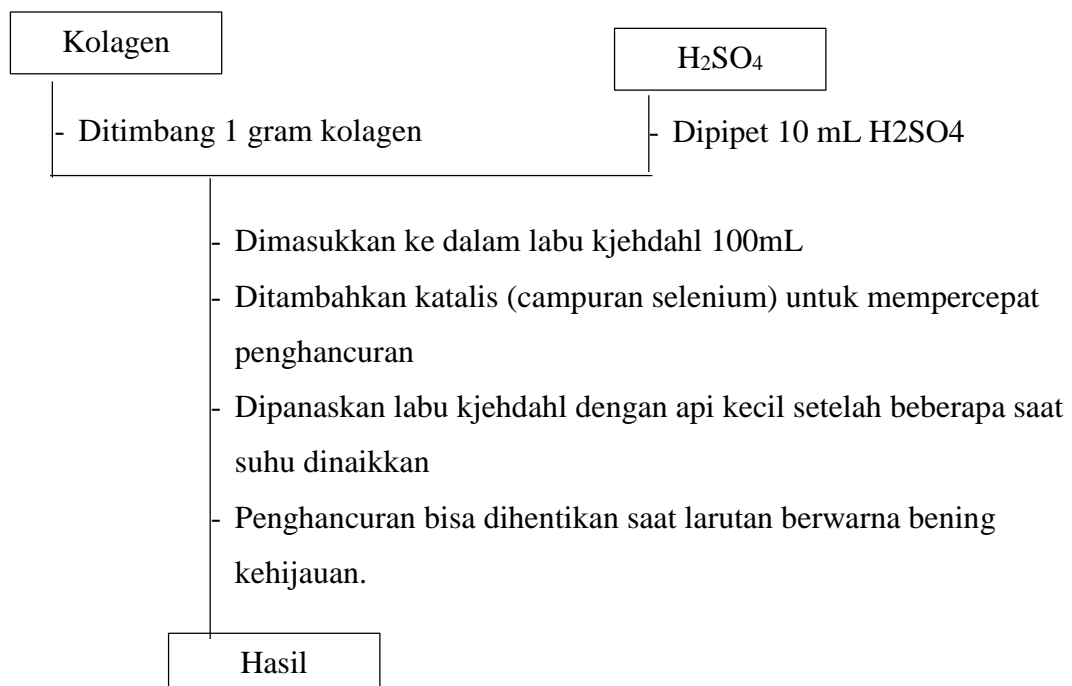
## 2.4 Nilai pH

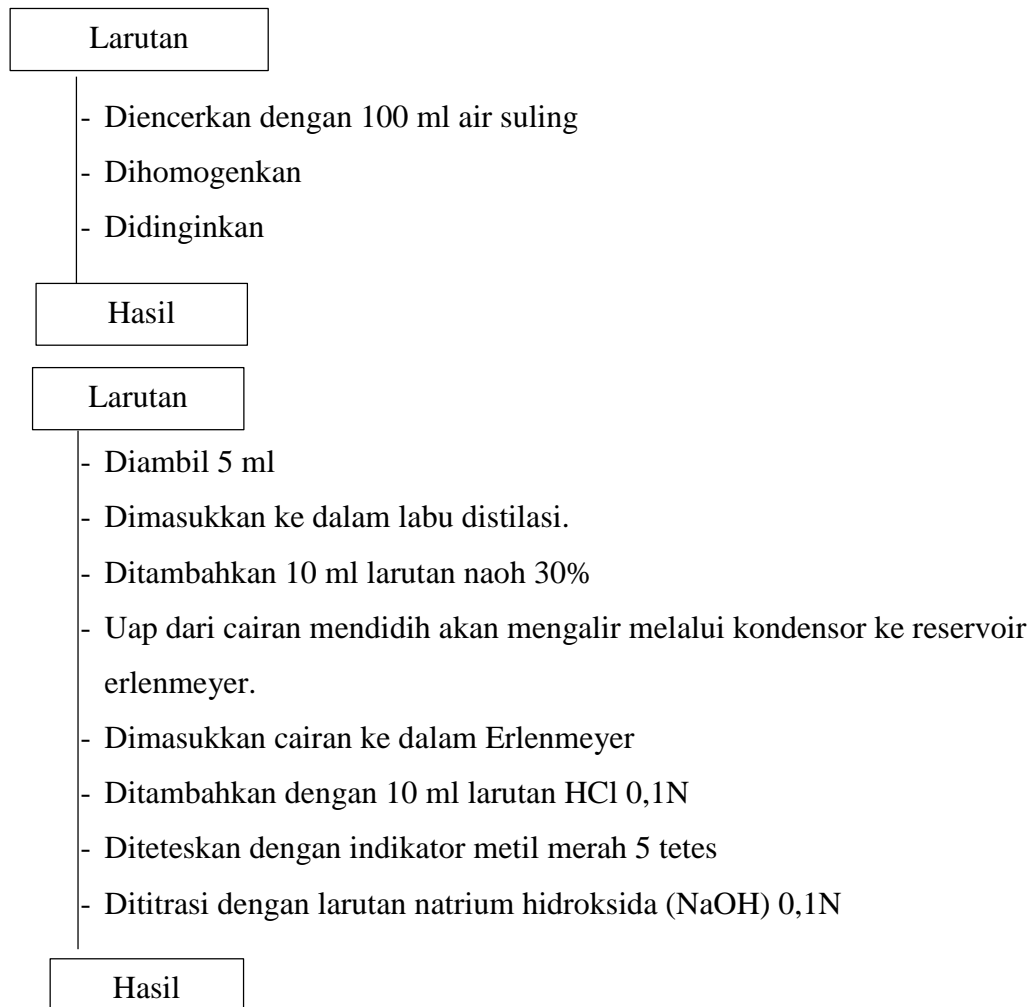


## 2.5 Kadar Lemak

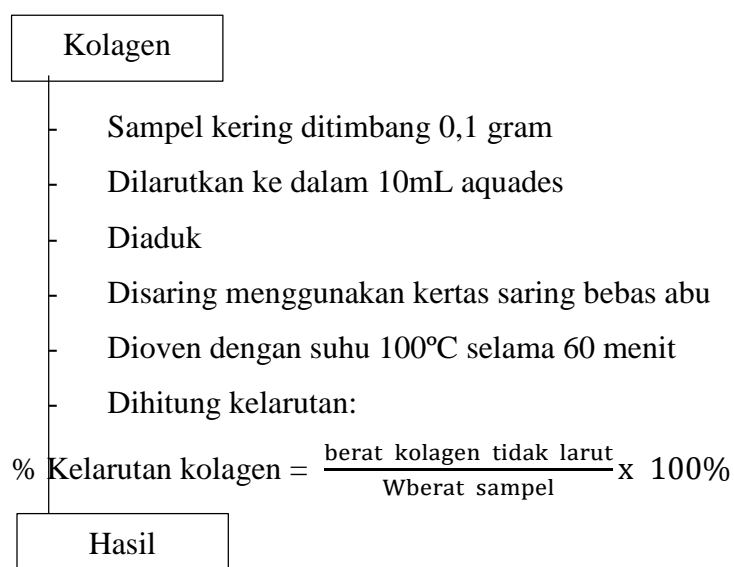


## 2.6 Kadar Protein

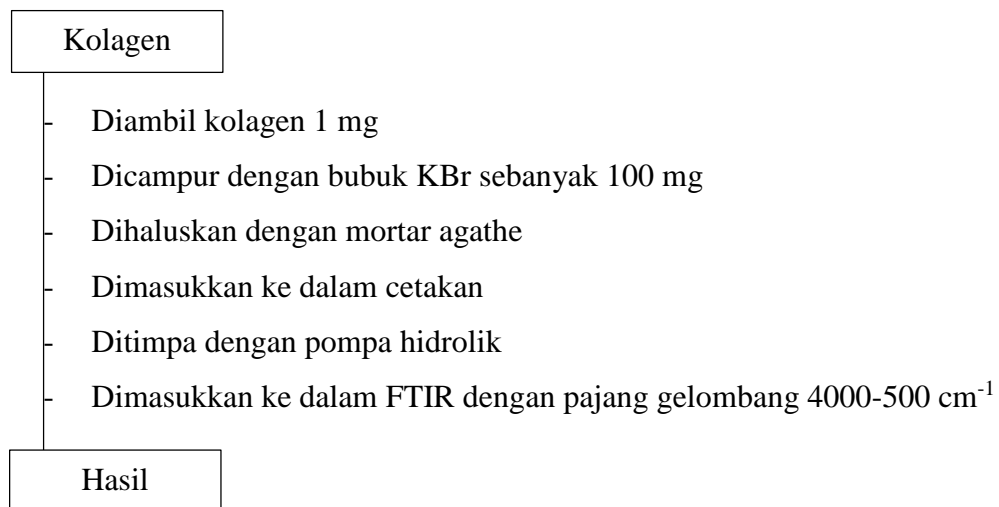




## 2.8 Kelarutan Kolagen



### 3. Identifikasi Gugus Fungsi dengan FTIR



## LAMPIRAN III

### PERHITUNGAN

#### 1. Pembuatan Larutan Sitrat 5% (b/v)

$$\% \left( \frac{b}{v} \right) = \frac{\text{Berat Zat Terlarut (gram)}}{\text{Volume Larutan}}$$

$$\frac{5 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = \frac{\text{Berat}}{100 \text{ mL}}$$

$$\frac{5 \text{ gram} \times 100 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = \text{Berat}$$

$$\frac{500 \text{ gram/mL}}{100 \text{ mL}} = \text{Berat}$$

$$5 \text{ gram} = \text{Berat}$$

#### 2. Pembuatan Larutan 1N NaOH

$$\text{Nilai ekivalen} = 1$$

$$\text{Mr NaOH} = 40 \text{ gram/mol}$$

➤ Mol NaOH

$$N = \left( \frac{n}{v} \right) \times e$$

$$1N = \left( \frac{n}{0,1 \text{ L}} \right) \times 1$$

$$1N \times 0,1L = n \times 1$$

$$0,1 \text{ mol} = n$$

➤ Massa NaOH

$$\text{Massa} = n \times \text{Mr}$$

$$= 0,1 \text{ mol} \times 40 \text{ gram/mol}$$

$$= 4 \text{ gram}$$

#### 3. Pembuatan larutan NaOH 30%

$$\% \left( \frac{b}{v} \right) = \frac{\text{Berat Zat Terlarut (gram)}}{\text{Volume Larutan}}$$

$$\frac{30 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = \frac{\text{Berat}}{100 \text{ mL}}$$

$$\frac{30 \text{ gram} \times 100 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = \text{Berat}$$

$$\frac{3000 \text{ gram/mL}}{100\text{mL}} = \text{Berat}$$

$$30\text{gram} = \text{Berat}$$

#### 4. Pembuatan Larutan 0,1N HCl

$$\text{Nilai ekivalen} = 1$$

$$\text{Konsentrasi HCl} = 37\%$$

$$\text{Berat Jenis Pekat} = 1,19 \text{ g/mL}$$

$$\text{Mr HCl} = 36,42 \text{ g/mol}$$

$$\frac{1,19 \text{ gram}}{1\text{mL}} = \frac{100 \text{ gram}}{V}$$

$$V = \frac{100 \text{ gram} \times 1 \text{ mL}}{1,19 \text{ gram}}$$

$$= 84,0336$$

$$= 0,0840336\text{L}$$

$$\text{mol} = \frac{\text{gram}}{\text{Mr}}$$

$$= \frac{37 \text{ gram}}{36,42 \text{ gram/mol}}$$

$$= 1,0159 \text{ mol}$$

$$M = \frac{\text{mol}}{V}$$

$$= \frac{1,0159 \text{ mol}}{0,0840336 \text{ L}}$$

$$= 12,09 \text{ M}$$

$$N = M \times \text{Valensi}$$

$$= 12,09 \times 1$$

$$= 12,09 \text{ N}$$

$$N_1 V_1 = N_2 V_2$$

$$12,09 \text{ N} \times V = 0,1 \text{ N} \times 10 \text{ mL}$$

$$V = 0,0827 \text{ mL}$$

## 5. Pembuatan Larutan 0,1N NaOH

Nilai ekivalen = 1

Mr NaOH = 40 gram/mol

➤ Mol NaOH

$$N = \left( \frac{n}{v} \right) \times e$$

$$0,1N = \left( \frac{n}{0,1 \text{ L}} \right) \times 1$$

$$0,1N \times 0,1L = n \times 1$$

$$0,01 \text{ mol} = n$$

➤ Massa NaOH

$$\text{Massa} = n \times \text{Mr}$$

$$= 0,01 \text{ mol} \times 40 \text{ gram/mol}$$

$$= 0,4 \text{ gram}$$

## 6. Perhitungan Rendemen

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat Akhir}}{\text{Berat Awal}} \times 100\%$$

Nama Sampel	Variasi Perendaman	Rendemen (%)	Rata-Rata (%)	Deviasi
Sampel 12	12 jam	1,16	3,61	2.156625
		5,21		
		4,47		
Sampel 24	24 jam	6,77	5,18	1.722585
		3,35		
		5,42		
Sampel 36	36 jam	7,12	5,64	1.43262
		5,54		
		4,26		
Sampel 48	48 jam	6,82	5,16	1.903952
		5,57		
		3,08		

### a. Variasi Waktu 12 jam

$$- \frac{1,16 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 1,16\%$$

$$- \frac{5,21 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 5,21\%$$

- $\frac{4,47 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 4,47\%$
- Rata-rata rendemen =  $\frac{1,16\%+5,21\%+3,37\%}{3} = 3,61\%$
- 

**b. Variasi Waktu 24 jam**

- $\frac{6,77 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 6,77\%$
- $\frac{3,35 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 3,35\%$
- $\frac{5,42 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 5,42\%$
- Rata-rata rendemen =  $\frac{6,77\%+3,35\%+5,42\%}{3} = 5,18\%$

**c. Variasi Waktu 36 jam**

- $\frac{7,12 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 7,12\%$
- $\frac{5,54 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 5,54 \%$
- $\frac{4,26 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 4,26\%$
- Rata-rata rendemen =  $\frac{7,12\%+5,54\%+4,26\%}{3} = 5,64\%$

**d. Variasi Waktu 48 jam**

- $\frac{6,82 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 6,82\%$
- $\frac{5,57 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 5,57\%$
- $\frac{3,08 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 3,08\%$
- Rata-rata rendemen =  $\frac{6,82\%+5,57\%+3,08\%}{3} = 5,16\%$



## 7. Perhitungan Kadar Abu

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{c - a}{b} \times 100\%$$

Nama Sampel	Cawan Kosong (gram)	Berat Sebelum (gram)	Berat Sesudah (gram)	Kadar Abu
Sampel 12	26,496	26,596	26,556	0,23%
Sampel 24	25,337	25,437	25,395	0,23%
Sampel 36	21,173	21,273	21,228	0,26%
Sampel 48	25,622	25,722	25,682	0,23%

### a. Sampel 12

$$\begin{aligned} \text{Kadar Abu (\%)} &= \frac{26,556 - 26,496}{26,596} \times 100\% \\ &= 2,3 \times 10^{-3} \times 100\% \\ &= 0,23\% \end{aligned}$$

### b. Sampel 24

$$\begin{aligned} \text{Kadar Abu (\%)} &= \frac{25,395 - 25,337}{25,437} \times 100\% \\ &= 2,3 \times 10^{-3} \times 100\% \\ &= 0,23\% \end{aligned}$$

### c. Sampel 36

$$\begin{aligned} \text{Kadar Abu (\%)} &= \frac{21,228 - 21,173}{21,273} \times 100\% \\ &= 2,6 \times 10^{-3} \times 100\% \\ &= 0,26\% \end{aligned}$$

### d. Sampel 48

$$\begin{aligned} \text{Kadar Abu (\%)} &= \frac{25,682 - 25,622}{25,722} \times 100\% \\ &= 2,3 \times 10^{-3} \times 100\% \\ &= 0,23\% \end{aligned}$$

## 8. Perhitungan Kelarutan Kolagen

$$\text{Kelarutan \%} = \frac{\text{Berat Kolagen terlarut}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

Nama Sampel	Kertas Saring (gram)	Berat Sampel (gram)	Berat Sesudah (gram)	Kelarutan kolagen (%)
Sampel 12	0,794	0,1	0,839	55
Sampel 24	0,926	0,1	0,938	88
Sampel 36	0,769	0,1	0,830	39
Sampel 48	0,762	0,1	0,817	45

### a. Sampel 12

$$\begin{aligned} \text{Kelarutan \%} &= \frac{0,1 - (0,839 - 0,794)}{0,1} \times 100\% \\ &= 0,55 \times 100\% \\ &= 55\% \end{aligned}$$

### b. Sampel 24

$$\begin{aligned} \text{Kelarutan \%} &= \frac{0,1 - (0,938 - 0,926)}{0,1} \times 100 \\ &= 0,88 \times 100\% \\ &= 88\% \end{aligned}$$

### c. Sampel 36

$$\begin{aligned} \text{Kelarutan \%} &= \frac{0,1 - (0,830 - 0,769)}{0,1} \times 100\% \\ &= 0,39 \times 100 \\ &= 39\% \end{aligned}$$

### d. Sampel 48

$$\begin{aligned} \text{Kelarutan \%} &= \frac{0,1 - (0,817 - 0,762)}{0,1} \times 100\% \\ &= 0,45 \times 100\% \\ &= 45\% \end{aligned}$$

## LAMPIRAN IV

### RISK ASSESSMENT

#### KEGIATAN PRAKTIKUM MAHASISWA

PROGRAM STUDI KIMIA FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG		IDENTIFIKASI BAHAYA DAN PENILAIAN RESIKO	PENELITIAN			
			Jumlah halaman : 3			
JUDUL PENELITIAN : Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen Tulang Ayam Broiler ( <i>Gallus domesticus</i> ) Dengan Variasi Lama Perendaman Pelarut Asam Sitrat						
No	Tahapan Kerja Penelitian	Potensi Bahaya	Upaya Pengendalian	Level		Tingkat Bahaya (R x P)
				Resiko (R)	Peluang (P)	
1.	Preparasi sampel	<ul style="list-style-type: none"><li>Saat membersihkan tulang ayam broiler yang tajam dapat menyebabkan luka pada tangan</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>Menggunakan Sarung Tangan</li></ul>	1	2	2
2	Ekstraksi Kolagen	<ul style="list-style-type: none"><li>Asam Sitrat merupakan senyawa asam yang bersifat kering dan larut yang mengakibatkan iritasi pada kulit dan mata.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>Tutup rapat di dalam tempat yang berventilasi baik, jauhkan dari sumber nyala dan panas.</li><li>Terhirup: hirup udara segar, berikan napas buatan, berikan masker oksigen jika diperlukan, secepatnya hubungi dokter. Kontak dengan mata: bilas dengan air yang banyak dengan kelopak mata terbuka lebar. Hubungi dokter mata. Tertelan: berikan korban air minum yang banyak</li><li>Menggunakan APD yang lengkap</li></ul>	3	2	6
		<ul style="list-style-type: none"><li>Natrium Hidroksida merupakan senyawa ion yang bersifat basa kuat, kaustik, dan memiliki sifat korosif, dan higroskopik (suka menyerap air). Bila terhirup menyebabkan iritasi berat, bersin, radang tenggorokan. Kontak dengan mata menyebabkan terjadinya iritasi dan kebutaan. terhirup menyebabkan korosif, iritasi, dan luka bakar yang dapat berakibat pada kerusakan penglihatan secara permanen, bahkan pada kebutaan. Setelah tertelan dapat mengakibatkan luka bakar serius pada mulut, tenggorokan, dan perut. Kerusakan pada jaringan dan kematian. Pendarahan, mual, diare, tekanan darah rendah.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>Kontak dengan kulit: cuci dengan air yang banyak dan lepaskan pakaian yang terkontaminasi. Kontak dengan mata: bilas dengan air yang banyak dengan kelopak mata terbuka lebar. Hubungi dokter mata. Terhirup: hirup udara segar, berikan napas buatan, berikan masker oksigen jika diperlukan, secepatnya hubungi dokter. Tertelan: berikan korban air minum yang banyak dan hubungi dokter.</li></ul>	3	2	6

3.	Karakterisasi	<ul style="list-style-type: none"> <li>Asam sulfat bersifat korosif, kontak dengan kulit menyebabkan luka bakar dan penghirupan aerosol asap. paparan dengan aerosol asam pada konsentrasi tinggi akan menyebabkan iritasi pada mata dan saluran pernapasan.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kontak dengan kulit: cuci dengan air yang banyak dan lepaskan pakaian yang terkontaminasi. Kontak dengan mata: bilas dengan air yang banyak dengan kelopak mata terbuka lebar. Hubungi dokter mata. Terhirup: hirup udara segar, berikan napas buatan, berikan masker oksigen jika diperlukan, secepatnya hubungi dokter. Tertelan: berikan korban air minum yang banyak dan hubungi dokter.</li> </ul>	3	2	6
		<ul style="list-style-type: none"> <li>Natrium hidroksida merupakan senyawa basa yang bersifat basa kuat, kaustik, dan memiliki sifat korosif, dan higroskopik (suka menyerap air) Bila terhirup menyebabkan iritasi berat, bersin, radang tenggorokan. Kontak dengan mata menyebabkan terjadinya iritasi dan kebutaan. terhirup menyebabkan korosif, iritasi, dan luka bakar yang dapat berakibat pada kerusakan penglihatan secara permanen, bahkan pada kebutaan. Setelah tertelan dapat mengakibatkan luka bakar serius pada mulut, tenggorokan, dan perut. Kerusakan pada jaringan dan kematian. Pendarahan, mual, diare, tekanan darah rendah</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kontak dengan kulit: cuci dengan air yang banyak dan lepaskan pakaian yang terkontaminasi. Kontak dengan mata: bilas dengan air yang banyak dengan kelopak mata terbuka lebar. Hubungi dokter mata. Terhirup: hirup udara segar, berikan napas buatan, berikan masker oksigen jika diperlukan, secepatnya hubungi dokter. Tertelan: berikan korban air minum yang banyak dan hubungi dokter.</li> </ul>	3	2	6
		<ul style="list-style-type: none"> <li>Asam klorida merupakan senyawa yang bersifat korosif terhadap logam. Menyebabkan kulit terbakar yang parah dan kerusakan serius pada mata. Dapat menyebabkan iritasi pada saluran pernafasan. Dapat merusak organ vital jukaterelan.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kontak dengan kulit: cuci dengan air yang banyak dan lepaskan pakaian yang terkontaminasi. Kontak dengan mata: bilas dengan air yang banyak dengan kelopak mata terbuka lebar. Hubungi dokter mata. Terhirup: hirup udara segar, berikan napas buatan, berikan masker oksigen jika diperlukan, secepatnya hubungi dokter. Tertelan: berikan korban air minum yang banyak</li> <li>Menggunakan APD yang lengkap</li> </ul>	3	2	6

#### KETERANGAN

**RESIKO** - merupakan suatu nilai yang ditetapkan untuk menentukan suatu tingkatan dampak/akibat berdasarkan keparahan yang disebabkan oleh kecelakaan kerja

Level-1	: Tidak ada cedera, kerugian biaya rendah, kerusakan peralatan ringan
Level-2	: Cedera ringan (hanya membutuhkan P3K), peralatan rusak ringan
Level-3	: Menyebabkan cedera yang memerlukan perawatan medis ke rumah sakit, peralatan rusak sedang
Level-4	: Menyebabkan cedera yang menyebabkan cacatnya anggota tubuh permanen, peralatan rusak berat
Level-5	: Menyebabkan korban jiwa (kematian), peralatan rusak berat

**PELUANG** - merupakan suatu nilai yang ditetapkan untuk menentukan tingkat frekuensi terhadap kejadian kecelakaan kerja

Level-1	: Hampir tidak pernah terjadi
Level-2	: Frekuensi kejadian jarang terjadi waktu tahunan
Level-3	: Frekuensi kejadian sedang dalam waktu bulanan
Level-4	: Hampir 100 % terjadi kejadian tersebut
Level-5	: 100 % kejadian pasti terjadi




**TINGKAT BAHAYA** - merupakan hasil perkalian dari Resiko (R) dan Peluang (P) sebagai tetapan tingkat bahaya dari suatu pekerjaan yang dilakukan



<b>SKOR :</b>	1-4	Rendah	Masih dapat ditoleransi
	5-10	Sedang	Dikendalikan sampai batas toleransi
	11-25	Tinggi	Pemantauan intensif dan pengendalian

	disusun oleh : Novi Mustika Sari	telah diperiksa oleh :		telah disetujui oleh : Ketua Jurusan
Tanggal	2021	2021	2021	2021
Tanda Tangan				
Nama	Novi Mustika Sari	Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P	A. Ghanaim Fasya, M.Si	Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIM/NIP	15630031	NIP. 19750410 200501 2 009	NIP. 19820616 200604 1 002	NIP. 19790620 200604 2 002

**LAMPIRAN V**  
**GAMBAR PENELITIAN**



**1. Ekstraksi Kolagen**

No.	Gambar	Keterangan
1.		<p>Tulang ayam telah dipotong kecil-kecil.</p>
2.		<p>Tulang ayam ditimbang 100 gram</p>
3.		<p>Proses perendaman tulang ayam dengan 5% asam sitrat selama 12, 24, 36 dan 48 jam.</p>





4.	 <p>The top image shows a pile of chicken bones, including ribs and drumsticks, on a white plate. The bottom image shows a clear glass mug with a handle, filled with a dark brown liquid, likely the filtrate.</p>	<p>Tulang ayam diambil dan diperoleh filtrat.</p>
5.	 <p>The top image shows a white funnel containing a yellowish-brown liquid (filtrate) being poured from a glass. The bottom image shows a clear plastic bottle with a red cap, containing a yellowish liquid (filtrate).</p>	<p>Proses penyaringan pengotor dan diperoleh filtrat bersih.</p>

6.		<p>Penambahan 1N NaOH hingga pH 7 (netral)</p>
7.		<p>Dilakukan pengecekan pH 7</p>
8.		<p>Penyaringan kolagen</p>



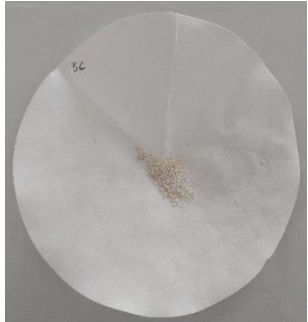
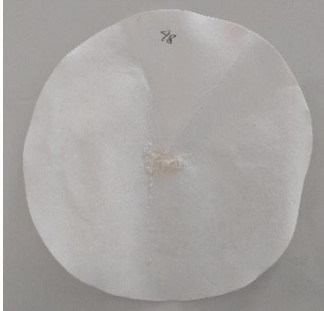


8.		Kolagen beku dan dilakukan freeze dry selama 1 hari
9.		Hasil ekstraksi kolagen

## 2. Kadar Abu Kolagen


No	Gambar	Keterangan
1		Kadar abu kolagen Sampel 12
2		Kadar abu kolagen Sampel 24
3		Kadar abu kolagen Sampel 36
4		Kadar abu kolagen Sampel 48

### 3. Kelarutan Kolagen

No	Gambar	Keterangan
1	 <p>A circular white filter paper with a small, light brown residue in the center. The number '12' is handwritten in the upper left quadrant.</p>	<p>Kelarutan kolagen Sampel 12</p>
2	 <p>A circular white filter paper with a small, light brown residue in the center. The number '24' is handwritten in the upper left quadrant.</p>	<p>Kelarutan kolagen Sampel 24</p>
3	 <p>A circular white filter paper with a small, light brown residue in the center. The number '36' is handwritten in the upper left quadrant.</p>	<p>Kelarutan kolagen Sampel 36</p>
4	 <p>A circular white filter paper with a small, light brown residue in the center. The number '48' is handwritten in the upper left quadrant.</p>	<p>Kelarutan kolagen Sampel 48</p>

## LAMPIRAN VI

### DATA HASIL PENGUJIAN

 <b>UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG</b>	<b>LABORATORIUM NUTRISI</b> <b>UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG</b> Jalan Raya Tlogomas No. 246 Telp. (0341) 464318 Pes. 167, Fax. (0341) 460782 e-mail : labpeternakanumm@gmail.com	<b>Bagian</b> <b>F 5.10-1</b>
<b>FORMULIR</b> <b>JUDUL</b> <b>LAPORAN HASIL PENGUJIAN</b>		
Tgl. Terbit/Revisi : 28 Agustus 2003/0 Halaman : 1 dari 1 File : F. LHP 072'20 Novi Mustika Sari.docx		

#### LAPORAN HASIL PENGUJIAN

No : 072/LHP/Lab.Nutrisi/UMM/IX/2020

Nama Pelanggan : Novi Mustika Sari  
 Alamat Pelanggan : Jl. Sunan Kalijaga No. 21 Malang  
 Instansi : Universitas Islam Negeri Malang Maulana Malik Ibrahim  
 Jenis Sampel Uji : Kolagen  
 Tanggal Terima : 15 September 2020  
 Tanggal Keluar : 19 September 2020  
 Jumlah Sampel : 1  
 Nomor Sampel : 072


No.	Nama Sampel	Kadar Air		DM (Dry Matter) LAB	DM TOTAL	ABU		PROTEIN		LEMAK KASAR		SERAT KASAR		Gross Energi
		I (60 °C)	II (105 °C)			Analisa LAB	Hasil Konversi*	Analisa LAB	Hasil Konversi*	Analisa LAB	Hasil Konversi*	Analisa LAB	Hasil Konversi*	
1	Kolagen	-	14,50	-	-	67,49	78,94	1,75	2,04	0,26	0,30	8,17	9,56	-
Satuan		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	cal/g
Metode Uji		SNI - 2891 -1992 Butir 5.1				AOAC 2016, Bab 4 Butir 4.1.10 Metode 942.05.		IK PM 5.4.1.3.e		SNI - 2891 -1992 Butir 8.1		SNI - 2891 -1992 Butir 11		KA C200

Keterangan : Lab. Nutrisi tidak bertanggung jawab atas hasil pengujian diluar sampel uji.

\* Atas Dasar Bahan Kering  
- Tidak Dianalisis/uji

Mengetahui,  
 Kepala Laboratorium  
  
 (Dr. Iqbal Khusni Khotimah, M.M. MP.)

Analisis  
  
 (Anwar Said)

	<b>LABORATORIUM NUTRISI</b> <b>UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG</b> Jalan Raya Tlogomas No. 246 Telp. (0341) 464318 Pes. 167, Fax. (0341) 460782 e-mail : labpeternakanumm@gmail.com	<b>Bagian</b> <b>F 5.10-1</b>
<b>FORMULIR</b> <b>JUDUL</b> <b>LAPORAN HASIL PENGUJIAN</b>		
Tgl. Terbit/Revisi : 28 Agustus 2003/0		
Halaman : 1 dari 1		
File : F. LHP 089'20 Novi Mustikasari.docx		

#### LAPORAN HASIL PENGUJIAN

No : 089/LHP/Lab.Nutrisi/UMM/X/2020

Nama Pelanggan : Novi Mustika Sari  
 Alamat Pelanggan : Jl. Sunan Kalijaga No. 21 Malang  
 Instansi : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim  
 Jenis Sampel Uji : Kolagen (Padat)  
 Tanggal Terima : 29 September 2020  
 Tanggal Keluar : 23 Oktober 2020  
 Jumlah Sampel : 3  
 Nomor Sampel : 089

No.	Nama Sampel	KADAR AIR			DM (Dry Matter) LAB	DM TOTAL	ABU		PROTEIN		LEMAK KASAR		SERAT KASAR		TDN	Gross Energi
		I (60 °C)	II (105 °C)	Total			Analisa LAB	Hasil Konversi*	Analisa LAB	Hasil Konversi*	Analisa LAB	Hasil Konversi*	Analisa LAB	Hasil Konversi*		
1	Sampel 24	-	19,77	-	80,23	-	66,62	83,04	4,36	5,44	0,25	0,32	10,54	13,13	-	-
2	Sampel 36	-	15,87	-	84,13	-	65,36	77,68	9,61	11,42	0,21	0,24	10,67	12,68	-	-
3	Sampel 48	-	14,66	-	85,34	-	59,99	70,29	2,18	2,56	0,13	0,16	10,93	12,81	-	-
Satuan		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	cal/g
Metode Uji		SNI - 2891 -1992 Butir 5.1					AOAC 2016, Bab 4 Butir 4.1.10 Metode 942.05.		IK PM 5.4.1.3.e		SNI - 2891 -1992 Butir 8.1		SNI - 2891 -1992 Butir 11			KA C2000

Keterangan : Lab. Nutrisi tidak bertanggung jawab atas hasil pengujian diluar sampel uji.

\*Atas Dasar Bahan Kering

- Tidak Disesuaikan

Mengetahui,  
 Kepala Laboratorium  
  
 (Dr. Ir. Khusrul Kholidmah, MM. MP.)

Analis  
  
 (Anwar Said)